

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2012 Vol.54 No.11

11

論 説

- リゾホスファチジン酸濃縮食品の開発に関する基礎研究
- 清酒中の品質劣化に関わるタンパク質のリン酸カルシウムによる除去
- II型糖尿病モデルマウス (KKAy) における D -カイロ-イノシトール (DCI) の改善効果
- 慢性腎臓病 (CKD) を予防するコーヒーの薬理学
- 「安全な食品のハザード分析表」を作成している理由
- 沖縄県産紅イモのアントシアニン色素について
- ペプチドと血管力向上
- 脂質分析と食品加工 (その1)
Analysis of Lipids and Application to Food Processing (Part 1)

連 載

- アマゴ用飼料-1. 成長段階別至適カロリー/タンパク質比 (CP比)
- “ガム市場”を創造した驚くべきヒット商品
ー『グリーンガム』&『クールミントガム』 株式会社ロッテ ー
- “薬膳”の知恵 (71)
- 築地市場魚貝辞典 (シシャモ)

News Release

- ☐ 新『L'プラザ東京ラボ』リニューアルオープン (株式会社 林原)
- ☐ ホスファチジルイノシトールを新発売 (ユニテックフーズ株式会社)
- ☐ 高機能性食物繊維シトリ・ファイ (鳥越製粉株式会社)



論 説

- ☐ リゾホスファチジン酸濃縮食品の開発に関する基礎研究
..... 徳村 彰, 井上 愛美, 足立 美佳 1
- ☐ 清酒中の品質劣化に関わるタンパク質のリン酸カルシウムによる除去
..... 近藤 徹弥, 石原 那美, 児島 雅博, 福原 徹
濱口 裕昭, 加藤 丈雄, 伊藤 智之, 松田 幹・ 7
- ☐ II 型糖尿病モデルマウス (KKAy) における
D - カイロ - イノシトール (DCI) の改善効果
..... 小山 智之, 城崎 美幸, 矢澤 一良 15
- ☐ 慢性腎臓病 (CKD) を予防するコーヒーの薬理学
..... 鈴木 聡, 岡 希太郎 21
- ☐ 「安全な食品のハザード分析表」を作成している理由
..... 柳本 正勝 29
- ☐ 沖縄県産紅イモのアントシアニン色素について
..... 山田 恭正 36
- ☐ ペプチドと血管力向上
..... 小林 優多郎, 松井 利郎 39
- ☐ 脂質分析と食品加工 (その 1)
Analysis of Lipids and Application to Food Processing (Part 1)
..... 渡部 保夫 47

Contents

2012 年 11 月号

連 載

- ☐ アマゴ用飼料 -1.
成長段階別至適カロリー / タンパク質比 (CP 比)
..... 酒本 秀一 56
- ☐ “ガム市場” を創造した驚くべきヒット商品
- 『グリーンガム』 & 『クールミントガム』 株式会社ロッテ -
..... 田形 暁作 67
- ☐ “薬膳” の知恵 (71)
..... 荒 勝俊 76
- ☐ 築地市場魚貝辞典 (シシヤモ)
..... 山田 和彦 83

◆ News Release

- 新『L' プラザ東京ラボ』リニューアルオープン 株式会社 林原 前付 5
- ホスファチジルイノシトールを新発売 ユニテックフーズ株式会社 前付 6
- 高機能性食物繊維シトリ・ファイ 鳥越製粉株式会社 前付 7

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料
コクベス

new 発酵調味料
D&M
ディアンドエム

セラチン & 小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベス
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

リゾホスファチジン酸濃縮食品の 開発に関する基礎研究

徳村 彰* 井上 愛美* 足立 美佳*

*TOKUMURA Akira, INOUE Manami, ADACHI Mika (徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部衛生薬学研究室)

Key Words: リゾホスファチジン酸・漢方薬・動物実験・ラット・商品開発

要 旨

グリセロリゾリン脂質はグリセロール骨格と一本の長いメチレン鎖を持つシンプルな構造のリン脂質クラスの総称である。リゾリン脂質は G タンパク共役受容体への特異的結合を介して多彩な生理作用を示す。リゾホスファチジン酸 (LPA) はその中心メンバーである。本稿では、LPA の消化管からの作用に着目し、その濃度を増加させ生体機能調節作用を高めた食品や食材の開発を目指した我々の基礎研究の成果について解説する。

はじめに

我が国では食事の欧風化が進み、三大栄養素の中でも脂質の過剰摂取が社会問題となっている。人々は脂質の量のみならず質に関する情報も期待している。どのような食事性脂質が健康に悪影響を及ぼすのか、それはどのような病気と関連が深いのか、等々である。

我々が摂取する脂質のうち量が多いのはトリアシルグリセロールとコレステロールエステルであり、これまでに、それらの構成脂肪酸や遊離コレステロールの体内濃度並びに栄養学的作用（食品の一次作用）や生体機能調節作用（食品の三次作用）が幅広く研究されてきた。以前より、食品由来のリノール酸（n-6 系列）の一部は体内でアラキドン酸を経て生理活性を有するエイコサノイドに転換されるため健康に良いとされ、多くのリノール酸強化油脂が開発された。しかし、その後、地中海食では n-9 系列のオレイン酸が、和食では n-3 系列の α-リ

ノレン酸、エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸が、それぞれ特徴的な機能を発揮することが明らかとなり、これら脂肪酸含有食品摂取バランスの重要性が指摘されている。しかし、上記の単純脂質と並んで摂取量が多いリン脂質の生体機能調節作用に関する研究はさほど進展していない。

食品リン脂質の大部分は 2 本のメチレン長鎖を持ち、極性頭部もコリン、エタノールアミン、L-セリン、グリセロール、*myo*-イノシトールと変化に富むため多様な分子種組成をとる。これら食品リン脂質は、消化管で遊離脂肪酸とリゾリン脂質（1 本鎖のリン脂質）に分解される

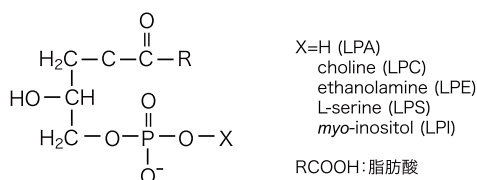


図1 リゾリン脂質の一般構造

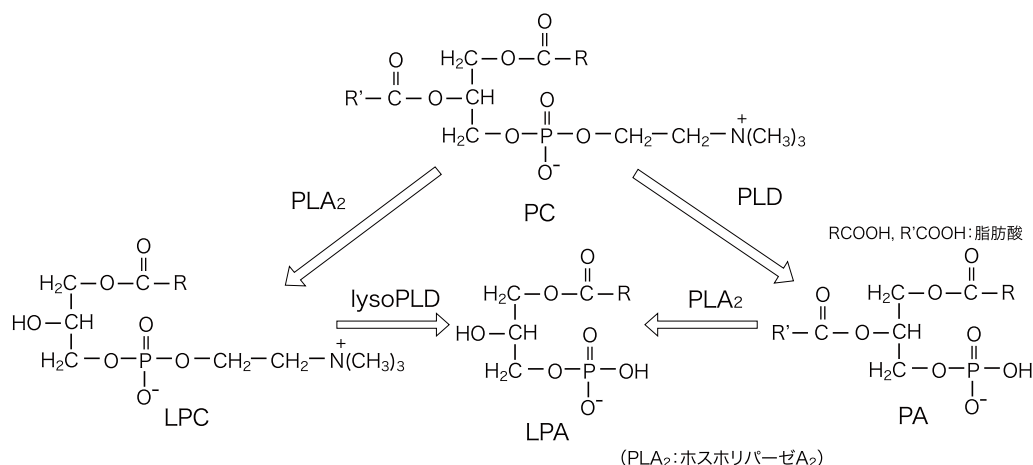


図2 哺乳類の消化管の管腔側でのLPAの産生経路

(図1)。近年、これらのリゾリン脂質が動物体内の細胞間で情報を伝達するシグナル分子として機能することが明らかとなった¹⁾。リゾホスファチジン酸 (LPA) はその代表分子であり、6個の膜7回貫通Gタンパク共役受容体(LPA₁₋₆)を介して実に多彩な生理活性を発揮する¹⁾。動物では、メディエーターとしてのLPAを産生する2種の経路が作動し(図2)、この重要なリゾリン脂質の体内局所での濃度や分子種組成を厳密に調節している²⁾。多くの食品素材は少量のLPAと量的にはそれよりかなり多い前駆体リン脂質[ホスファチジン酸(PA)、リゾホスファチジルコリン(LPC)などのリゾリン脂質]を含んでいるので、それらの摂取後、消化管内で新たにLPAが産生される場合も多い³⁻⁵⁾。本総説では、消化管粘膜の管腔側から作用するLPAのメディエーターとしての役割に焦点を当て新規な機能性食品開発を目指して展開した基礎研究成果を紹介する。

1. 食品素材に含まれるLPAの効能

古くから大豆レシチンは多種類の健康食品の素材として使用されてきた。必須脂肪酸(リノール酸, α-リノレン酸)に富み、体内で必

要なコリンの供給源であったからである³⁾。また、最終的収率は0.1%と微量成分ではあるが、これら必須脂肪酸を多く含有するLPAが血管作動性リン脂質として大豆レシチンから単離・同定されていた⁶⁾。最近、大豆レシチンから調製した高LPA濃縮物をウイスター系雄ラットの胃内に投与すると、水浸拘束負荷(1.5時間)を受け生じる胃潰瘍の度合いが低下することが明らかとなった⁷⁾。LPAを生理食塩水に拡散後、ゾンデで絶食ラットの胃内体積の約3分の1を占めるように注入する手法を用いており、ストレス負荷の2時間前、直後と0.5時間後の3回投与で1 μM以上の濃度の大豆由来LPAで効果があった。2時間前と直後および直後と0.5時間後の2回での組み合わせでも有効であったので、ストレス負荷の早い時期に胃粘膜上皮細胞内でLPAからのシグナルが細胞傷害惹起シグナルに拮抗していると推定されるが、その分子論的作用機序は不明である。このような実験系では、注入したLPAのどの程度がストレス負荷時に胃内に残存できているのであろうか。そこで、我々は、標準LPA溶液(オレオイル-LPA, 0.1 mM)を注入後、経時的にラット胃を摘出し、管腔側内容物やその管腔側からの洗浄液を回収しLPAを分析した。図3に

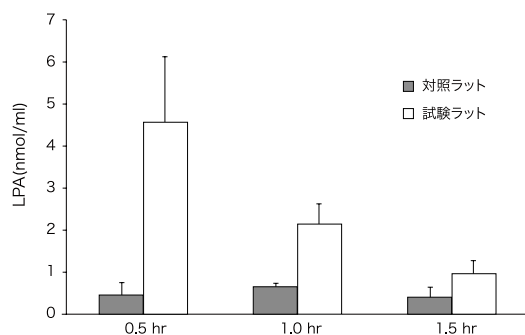


図3 LPA 溶液のラット胃内投与後の胃管腔内 LPA 残存量の LC-MS-MS 解析

生理食塩水を投与した対照群 (n=3) オレオイル-LPA (0.1 mM) を投与した試験群 (n=4,5) の平均値と標準誤差を示す。

示すように、LPA 溶液の胃内残存率は 0.5, 1 と 1.5 時間で約 4, 2 と 1 μ M と順次、低下していった。この結果から、LPA 液の大部分は速やかに小腸の管腔に流れ落ちるが、一部が胃粘液や粘膜上皮表面に残存して粘膜保護作用を示すことが推定された。

MALDI-TOF-MS を用いた解析により、リノール酸や α -リノレン酸を多く含む LPA がキャベツや小松菜などの野菜にも豊富に含まれていることが示された (2-6 nmol/g 新鮮重量)⁸⁾。また、LPA 産生酵素の負の生成物阻害活性を指標に LPA 様活性が種々の種子抽出物に含まれていることも報告されている⁹⁾。更に、LPA 含量の多い野菜はホスホリパーゼ D (PLD) 活性や PA も多く含むことから、摂取後の咀嚼や消化の過程で PA 濃度が、更には LPA 濃度が増加することが推定された¹⁰⁾。

LPA が強い細胞遊走活性を示し小腸や皮膚での創傷治癒に関与することからキャベツの胃粘膜保護に LPA が寄与することが示唆された^{5,8)}。事実、野菜から抽出した脂質混合物は標準品 LPA (オレオイル) と同様に胃粘膜上皮由来の HGC-27 の遊走を刺激する活性を有していた⁸⁾。LPA は胃などの正常な消化管の

粘膜上皮に対しては創傷治癒作用を発揮すると思われるが、消化管内に悪性腫瘍が存在する状況では、その腫瘍細胞の悪性化に与する可能性は否定できず、今後、この観点からの更なる検討が必要である。

2. 漢方薬素材に含まれる LPA の効能

ケシ科植物は強い PLD 活性を持つため高めの PA や LPA 含量を示すものがある。ストレス性胃潰瘍に効くとされる漢方薬 (安中散) はケシ科植物由来の延胡索を原料として含むことから LPA 含量が高くその効能の発揮に関与していることが推定された^{5,7)}。そこで、上述の水浸拘束負荷モデルで試験してみると、安中散の煎じ液は胃潰瘍を有意に抑制することが明らかとなった⁷⁾。また、延胡索以外の 6 生薬 (良姜, 甘草, 縮砂, 茴香, 牡蠣, 桂皮) と比べると延胡索の LPA 含量は高く、これら 6 生薬のみを配合した煎じ液のラット胃内投与では統計学的に有意な胃潰瘍抑制は認められなかった⁷⁾。表 1 に示すように、安中散と類似の効能を示す半夏厚朴湯や半夏瀉心湯の煎じ液も安中散の煎じ液に匹敵する LPA 含量を有していた。半夏瀉心湯では、リノール酸、 α -リノレン酸とパルミチン酸が全構成脂肪酸の約 20% をそれぞれ占めるが、半夏厚朴湯ではリノール酸が約 51%, パルミチン酸が 23%, α -リノレン酸が 3.5% 程度であり、両者の分子種組成は異なっていた。最近、日本の薬用植物の中には LPA の前駆体となる PA を多く含むものがあることも報告された (アカメガシワ, ヨモギなど)¹⁰⁾。

最近、精力増強や長命に有効な人参 (オタネニンジン, *Panax ginseng* の根) から、糖リポタンパク (gintonin; ginseng major latex-like protein 16.8 kDa, ribonuclease-like protein 27.3 kDa) が単離され、リノール酸とパルミチン酸を多く含

表 1 胃疾患に効く漢方薬に含まれる LPA の LC-MS/MS による分子種分析

漢方薬名	濃度 (nmol/g)	分子種組成 (%)					
		16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
安中散	206	31.0	1.1	2.1	10.7	51.3	3.8
	189	22.0	0	2.8	13.0	57.9	4.3
半夏厚朴湯	301	22.4	4.7	3.3	1.2	39.0	29.0
	488	18.6	5.5	2.7	2.6	38.1	32.5
半夏瀉心湯	481	24.8	0.9	1.7	9.1	59.0	4.5
	391	22.9	1.1	2.6	7.7	62.8	3.0

同じ販売元の市販漢方薬の煎じ液 0.2 ml (25 mg/ml) から脂質抽出を行い、文献 7 に示す方法で LPA 分子種を定量した。LPA の総量は煎じ液に加えた漢方薬の重量 (mg) 当たりの nmol に補正して示した。煎じ液の調製は、それぞれ 2 回行った。

有する LPA (C18:2, 438 ± 8.8 nmol/g 新鮮重量, C16:0, 48.9 ± 5.9 nmol/g) を結合していること、その総 LPA 濃度は野菜などの値の 80–240 倍であることが報告された。人参サポニンによる作用に加えて、LPA の G-タンパク共役受容体を介する作用が人参の有用性に寄与していることが明らかとなった¹¹⁾。興味あることに、gintonin の EC₅₀ 値 (0.45–8 nM) は遊離オレオイル-LPA の EC₅₀ 値 (59 nM, LPA₃) より有意に低く、その糖鎖を切断すると活性が失われる

3.

消化管系でのリゾリン脂質の産生・代謝・吸収並びに排泄¹²⁾

という。

LPA 以外の 4 種のリゾリン脂質 [LPC, リゾホスファチジルエタノールアミン (LPE), リゾホスファチジルセリン (LPS), リゾホスファチジイルノシトール (LPI)] もメディエーターとして機能するとの研究成果が近年、数多く報告されている²⁾。また、それらの構造を認識できる受容体や結合タンパク質も続々と同定されている。これらは、エンドカンナビノイド (2-アラキドノイルグリセロール, アナンドミド), エンドバニロイド (アナンドミド) やスフィンゴリゾリン脂質と共にリゾ脂質メディエーターのファミリーを形成している。このファミ

リーのメンバーの多くは、消化管の管腔内で 2 本鎖の食品由来脂質や分泌脂質の分解で生じる。これらは粘膜上皮細胞の形質膜を通過する分子でもあることから、消化管全域での消長や動態並びに代謝や細胞内取り込みを、今後、詳細に検討していく必要があると考える。実験動物飼育用の固形餌は必要な栄養素を混合したものと、それらに天然素材を配合したものが使用されている。後者の型の餌には、少量だが有意な量のリゾリン脂質が含まれていることを我々は偶然に見出した。そこで、この餌で一定期間飼育したウイスター系雄ラットの糞を回収し、脂質抽出を行い LC-MS/MS でリゾリン脂質のクラス別総量や分子種組成を測定し、餌からの脂質抽出物の量と比較した (図 4)。餌に含まれていた飽和脂肪酸を持つ LPC, LPE と LPI は少量だが糞に存在していた。しかし、不飽和脂肪酸を持つこれらリゾリン脂質の糞含量は著しく低く、消化管内で大部分が代謝・吸収されたものと思われる。ところが、脳機能改善作用が注目のホスファチジルセリンから派生する LPS の場合は、二重結合のない飽和脂肪酸分子種のみが糞での濃度に匹敵する濃度で餌に検出されており、不飽和脂肪酸含有 LPS に比べて飽和脂肪酸含有 LPS の代謝・吸収速度が低いことが推定された。興味あることに、飽和脂肪酸含有 LPA も不飽和脂肪酸含有 LPA もかなり

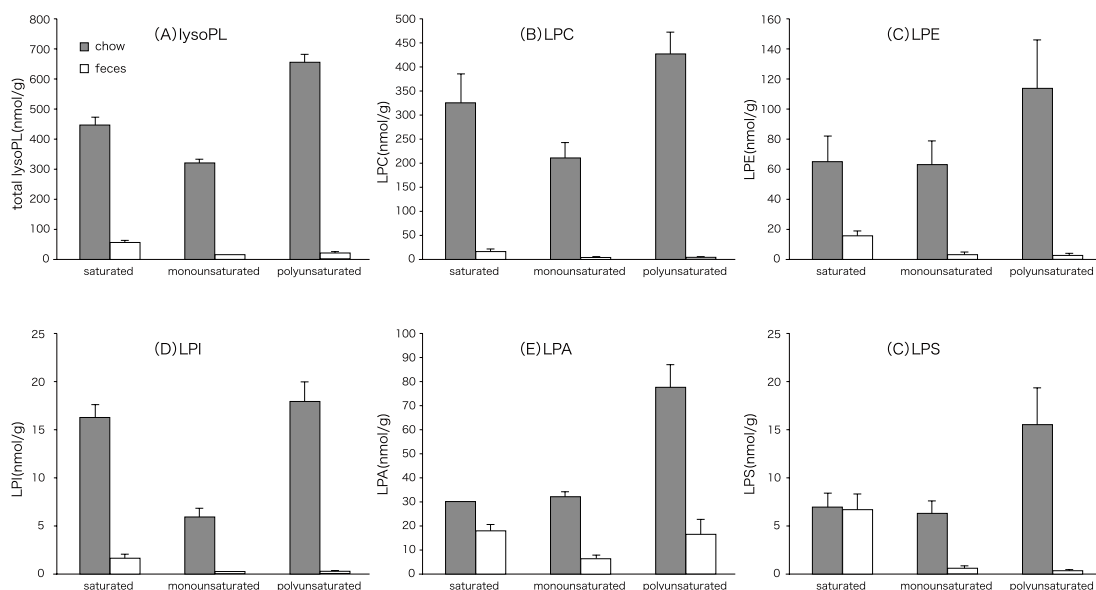


図4 ラット糞と飼育に用いた固型飼料のリゾリン脂質のLC-MS-MSによる分子種分析

文献12に示すデータをもとに、飽和種、単不飽和種、多価不飽和種に区別した値(平均値, 標準誤差)を示す。餌と糞の値は、5と4回のそれぞれ独立した実験の平均値と標準誤差である。

の割合で糞に含まれており、他のリゾリン脂質に比べてLPAはラットの消化管内では代謝・吸収されにくいと思われる。この知見は、経口投与したLPAや消化管内で産生されたLPAの一部は大腸にまで届きその粘膜上皮に作用できるということを意味する。最近の我々の総説で言及したように、結腸へのLPA局所投与によりコレラ毒素による重篤な下痢症状が緩和されること、およびLPA局所投与が大腸がんの悪性化に関与することが報告されている⁴⁾。少なくともラットでは、経口投与したLPAの一部は大腸に到達し、上記のような善玉あるいは悪玉としての作用を発揮する可能性がある。

おわりに

我々は、強い創傷治癒作用を持つLPAに着目し、それを含む食品素材のLPA濃度を高めた製品の開発を目指し基礎研究を開始した。その成果により胃潰瘍モデル動物では胃内投与

LPAの有効性が確認されたが、実際の経口投与での効果を判定する際には、口腔、咽頭や食道などの上部消化管粘膜と胃より下の小腸や大腸粘膜への正と負の効果を総合的に評価する必要があると考えている。また、消化管内におけるLPAの産生・代謝・吸収・移動などの基礎データを集積しておくことも必要である。これらに関する研究成果が十分に得られれば、豆類や野菜等の健康増進作用に関して、LPAを含むリゾリン脂質やそれらの前駆体リン脂質が寄与しているという科学的な根拠が賦与できることとなり、食材選択や食習慣の啓蒙にも有用な情報発信となるであろう。ただ、サプリメントとしてのLPA濃縮製品の開発の際や、高LPA含有天然素材の優先的摂取の啓蒙の際には、LPAの摂りすぎには十分に留意する姿勢が肝要である。今後のリゾリン脂質含有食品素材の啓蒙や補助食品の開発のためにも、リゾリン脂質の安全な摂取濃度範囲や摂取対象者の範囲を提示できるような研究が進展することを期待したい。

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

- 1) 清水嘉文, 徳村 彰: リゾホスファチジン酸の生理学的役割および疾患との役割. 生化学, **83**(6): 506-517, 2011.
- 2) 井上飛鳥, 青木淳賢: 第二世代の生理活性リン脂質としてのリゾリン脂質. 実験医学, **27**(13): 2059-2067, 2009.
- 3) 徳村 彰: コリン含有リン脂質とその代謝物 ビタミン総合事典, 日本ビタミン学会編, 朝倉書店, p 523-541, 2010.
- 4) Tokumura A. Physiological significance of lysophospholipids that act on the lumen side of mammalian lower digestive tracts. *J. Health Sci.*, **57**(2): 115-128, 2011.
- 5) 田中 保: 胃腸障害に効く野菜のリン脂質. 化学と生物, **49**(2): 187-192, 2011
- 6) 徳村 彰: 薬理活性を持つリゾリン脂質 一局所ホルモンの可能性一. 化学と生物, **15**(11): 709-711, 1977.
- 7) Adachi M, Horiuchi G, Ikematsu N, Tanaka T, Terao J, Satouchi K and Tokumura A.: Intragastrically administered lysophosphatidic acids protect against gastric ulcer in rats under water-immersion restraint stress. *Dig. Dis. Sci.*, **56** (8): 2252-2261, 2011.
- 8) Tanaka T, Horiuchi G, Matsuoka M, Hirano K, Tokumura A, Koike T and Satouchi K.: Formation of lysophosphatidic acid, a wound-healing lipid, during digestion of cabbage leaf. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **73** (6): 1293-1300, 2009.
- 9) Liu X-W, Sok D-E, Yook H-S, Sohn C-B, Chung Y-J and Kim MR.: Inhibition of lysophospholipase D activity by unsaturated lysophosphatidic acids or seed extracts containing 1-linoleoyl and 1-oleoyl lysophosphatidic acid. *J. Agric. Food Chem.*, **55**(21): 8717-8722, 2007.
- 10) Tanaka T, Kassai A, Ohmoto M, Morito K, Kashiwada Y, Takaishi Y, Urikura M, Morishige J, Satouchi K, Tokumura A.: Quantification of phosphatidic acid in foodstuffs using TLC-imaging technique. *J. Agric. Food Sci.*, **60** (16): 4156-4161, 2012.
- 11) Hwang SH, Shin T-J, Choi S-H, Cho H-J, Lee B-H, Pyo MK, Lee J-H, Kang J, Kim H-J, Park C-W, Shin H-C and Nah S-Y.: Gintonin, newly identified compounds from ginseng, is novel lysophosphatidic acids-protein complexes and activates G-protein-coupled lysophosphatidic acid receptors with high affinity. *Mol. Cells.*, **33** (2): 151-162, 2012.
- 12) Inoue M, Adachi M, Shimizu Y, Tsutsumi T and Tokumura A.: Comparison of lysophospholipid levels in rat feces with those in a standard chow. *J. Agric. Food Chem.*, **59** (13): 7062-7067, 2011.

清酒中の品質劣化に関わるタンパク質の リン酸カルシウムによる除去

近藤 徹弥^{*1} 石原 那美^{*1} 児島 雅博^{*1} 福原 徹^{*1} 濱口 裕昭^{*1} 加藤 丈雄^{*1}
伊藤 智之^{*2} 松田 幹^{*3}

^{*1} KONDO Tetsuya, ISHIHARA Nami, KOJIMA Masahiro, FUKUHARA Tohru, HAMAGUCHI Hiroaki,
KATO Takeo (あいち産業科学技術総合センター)

^{*2} ITOH Tomoyuki (盛田株式会社)

^{*3} MATSUDA Tsukasa (名古屋大学大学院 生命農学研究科応用分子生命科学専攻)

Key Words：リン酸カルシウム・清酒・タンパク質除去・鮮度保持

はじめに

昔から酒造りの基本は「一麹,二モト(酒母),三つくり(醪)」にあるといわれ,これらの出来不出来が清酒の品質を左右する。しかし,手間ひまをかけ,熟練した技術で醸した良質な清酒であっても,その品質を維持できなければ製品価値は大きく下がる。このため,清酒の品質を長期間維持する鮮度保持技術が非常に重要となる。

もろみを圧搾後に得られる原酒には,米,麹菌や酵母に由来するタンパク質が残存している。残存するタンパク質は滓や濁りを引き起こし¹⁾,クレームの元となる。また,グルコアミラーゼなどの酵素の活性が残存していると,製品の着色を促進し,「甘だれ」や「生老香(なまひねか)」と呼ばれる風香味の変質を引き起こす^{2,3)}。滓の生成や品質変化を防ぐため,常温で流通する一般清酒では,圧搾(粕の除去)後,「火入れ(加熱)」,「滓下げ」,「ろ過」の工程で滓を強制的に発生させ,その滓を除去することによって,滓の原因タンパク質や変質を引き起こす酵素が除去されている(図1)。各工程後の清酒のタンパク質電気泳動(SDS-PAGE)

を図2に示した。一般清酒の場合(図2A),火入れにより酵素は熱失活するが,大部分のタンパク質が清酒中に残存している。火入れ後,滓下げ・ろ過工程を経ることにより清酒中のタンパク質はほぼ消失するが,滓下げ・ろ過工程のみではタンパク質は十分には除去されない。しかし,加熱工程は熱エネルギーを多大に消費し,滓下げ工程には数日~数週間を要するため,製造コストが増大し,環境への負荷も少くない。また,これらの処理を行っても,保存や流通中に残存タンパク質が徐々に凝集して滓(二

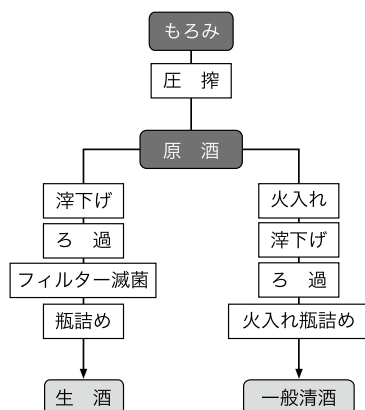


図1 清酒の火入れ, 滓下げ工程の例

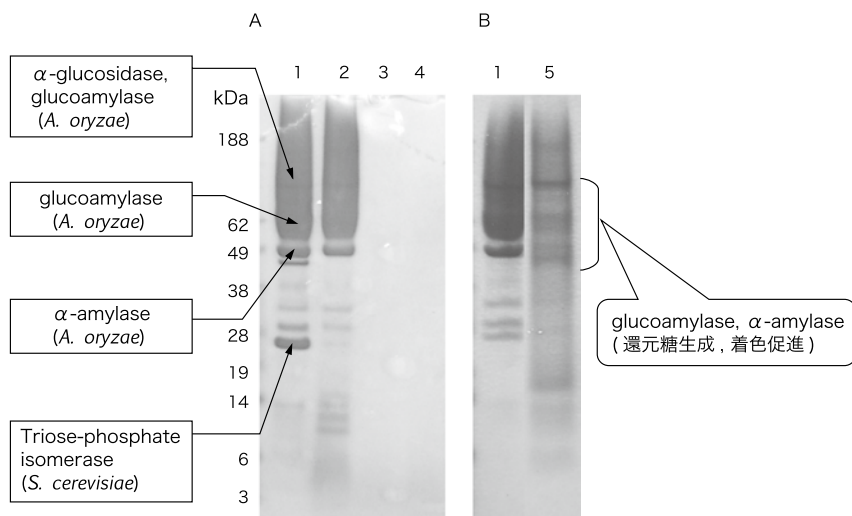


図2 火入れ、滓下げ工程後の清酒の SDS-PAGE

一般清酒 (A), 生酒 (B)。

Lane1: 原酒, 2: 火入れ後, 3: 火入れ・滓下げ・ろ過後, 4: 火入れ・滓下げ・ろ過・二次火入れ後, 5: 滓下げ・ろ過後。矢印のタンパク質は MALDI-TOF MS/MS により同定された。

次滓)が発生することがある(図3)。このため、複数回の火入れを行う場合もある。複数回、あるいは過度の火入れは、製品本来の風味や色調を損なう恐れがある。一方、絞りたての新鮮さと爽やかな味わいが特徴である生酒には火入れ工程がないため、滓下げのみではタンパク質の除去が十分でなく、グルコアミラーゼなどの酵素が残存している(図2B)。したがって、製造工程中だけでなく出荷後も冷蔵保管が必要である。冷蔵下であっても酵素反応は徐々に進むため、生酒の賞味期限は1～6ヶ月と短い。

このように、清酒中に存在するタンパク質は潜在的な品質劣化要因となるため、清酒の品質を変化させずに、タンパク質のみを効率的に除去もしくは分解する必要がある。これまでに我々は、セラミックスを用いて液状食品中の滓原因タンパク質を吸着除去する研究を行ってきた。その過程で、タンパク質吸着剤としてリン酸カルシウム(CAP)に着目した。

CAPはカルシウムとリン酸もしくはピロリン酸からなる化合物の総称であり、モネタイト

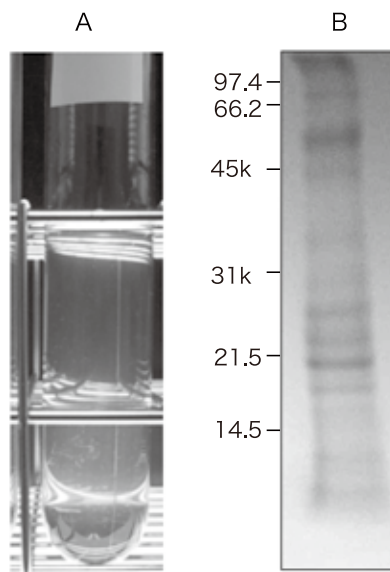


図3 清酒の濁り

火入れ・滓下げた清酒の保存中に発生した濁り(A), 及び濁り画分(遠心沈澱)の SDS-PAGE (B)

(CaHPO_4), ブルシャイト($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)や骨や歯の主要構成成分であるハイドロキシアパタイト(HA , $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$)などが含まれる⁴⁾。

CAPは陶器や肥料の原料、食品添加物、人工骨などの生体材料として広く使用されている。またCAPは正に帯電しているサイトと負に帯電しているサイトの両方を持つ両性イオン交換体であり、この両サイトの複合作用により、荷電状態の異なる多種多様なタンパク質を広く吸着できると考えられている⁵⁾。このユニークなタンパク質吸着特性を活かして、古くからタンパク質精製のクロマトグラフ担体としても用いられてきた⁶⁾。本稿では、タンパク質高吸着性CAPを新規に開発し、本CAPを清酒中のタンパク質の除去に適用した結果について報告する。

1. 材料と方法

1-1. 材料

出発原料、温度条件、添加物を変えて、湿式合成法により11種類のCAPを調製した(表1)。比較対照用のCAPとして、市販のHAであるHApW(和光純薬製、カラムクロマトグラフ用、080-04241)とHApN(ナカライテスク製、Fast Flow type, 18737-04)を用いた。

1-2. CAPの物理化学的測定

X線回折(XRD)によるCAPの結晶相の同定には、リガク製RINT 2100/PCを用いた。走

査電子顕微鏡(SEM)によるCAPの表面構造の観察には、日本電子製JSM-820を用いた。Ca/Pモル比は、蛍光X線分析装置(リガク製, RIX3100)により測定した。CAPの比表面積は、全自動ガス吸着装置(Quantachrome製, AUTOSORB-1)を用いて、窒素吸着によるBET法により測定した。

1-3. CAPへのモデルタンパク質の吸着

モデルタンパク質として、塩基性タンパク質であるリゾチーム(LYZ, MW 14,000, pI10.8)と酸性タンパク質である牛血清アルブミン(BSA, MW 67,000, pI4.7)を用いた。1 mg/mL LYZ, またはBSA溶液(10 mM リン酸ナトリウム緩衝液, pH7.0)の1 mLを10 mgのCAPと25℃で16 h接触させた後、遠心上清液の残存タンパク質濃度からCAPへの吸着量を求めた。

1-4. 清酒とCAPとの接触試験

もろみを絞った清酒(原酒)にCAPを20℃で懸濁し、一定時間振とうした。懸濁液をろ過、または遠心分離し、その上澄み液をCAP接触清酒とした。

1-5. 清酒の分析法

Bradford法⁷⁾を用いて清酒中のタンパク質濃度を定量し、原酒中のタンパク質濃度とCAP接触清酒中のタンパク質濃度の差からタンパク

表1 湿式合成法によるリン酸カルシウムの調製条件

No.	Ca source (mol)		P source (mol)		Additive (mol)	Alkali source (mol)		Temp. (°C)	Addition of		
									Ca + P + additive	alkali	
CAP1	Ca(NO ₃) ₂	0.3	(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.18		NH ₄ OH	0.6	50	gradually	gradually	
CAP2	Ca(NO ₃) ₂	0.3	(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.18		NH ₄ OH	1.5	95	gradually	gradually	
CAP3	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18		NaOH	0.03	50	gradually	gradually	
CAP4	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18		NaOH	0.6	50	gradually	gradually	
CAP5	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18		NaOH	0.6	95	gradually	gradually	
CAP6	Ca(NO ₃) ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18		(NH ₄) ₂ CO	0.45	95	gradually	gradually	
CAP7	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18		(NH ₄) ₂ CO	0.45	95	gradually	gradually	
HApW	Wako, for column chromatography										
HApN	Nacalai, fast flow type										
CAP10	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18				35	at once		
CAP11	CaCl ₂	0.3	Na ₂ HPO ₄	0.18	NaHCO ₃	0.12		35	at once		
CAP12	CaCl ₂	0.3	NaH ₂ PO ₄	0.18			NaOH	0.6	35	at once	gradually
CAP13	CaCl ₂	0.3	NaH ₂ PO ₄	0.18	NaHCO ₃	0.12	NaOH	0.6	35	at once	gradually

質除去率を求めた。電気泳動解析は、以下のように行った。透析膜（分画分子量 3,500 Da）を用いて、清酒を蒸留水に対して一晩 5℃にて透析した。透析内液を凍結乾燥し、50 倍濃縮液となるように蒸留水に溶解し、SDS-PAGE に供した。泳動後、CBB 染色を行い、タンパク質を検出した。グルコアミラーゼ活性の測定には、糖化力分別定量キット（キッコーマン製）を用いた。清酒の成分分析は、国税庁所定分析法⁸⁾に準じた。

2. 結果と考察

2-1. CAP の粉体特性

図 4 に調製した CAP の SEM 像を、表 2 に CAP の特性を示した。調製法の違いによって、不定形、板状、針状、ブロック状など様々な形態の CAP が得られ、Ca/P モル比や比表面積も大きく異なった。XRD の結果によれば、CAP は HA、カルシウム欠損型 HA (CDHA)、モノタイト、ブルシャイト、またはそれらの混合物であった。CAP の結晶相と比表面積との関連は見いだされなかった。CAP6 や HApW などのように XRD のピーク形状が非常にシャープである結晶性の良いものや、CAP5、HApN、CAP11 などのようにピーク形状がブロードである結晶性のあまり良くないものが存在し、結晶性の良い CAP は比表面積が小さいことがわかった。CAP4、CAP11、CAP12、CAP13 は、クロマトグラフ用担体として用いられる市販品 (HApN) よりも比表面積が大きかった。また、CAP11、CAP12、CAP13 の調製条件は、CAP10 の調製条件に NaHCO_3 や NaOH を追加したた

けであるが、このことにより比表面積が大幅に増加したのは非常に興味深い。

2-2. CAP のモデルタンパク質に対する吸着特性

CAP の物理化学的性質とタンパク質吸着能との関係について明らかにするため、塩基性タ

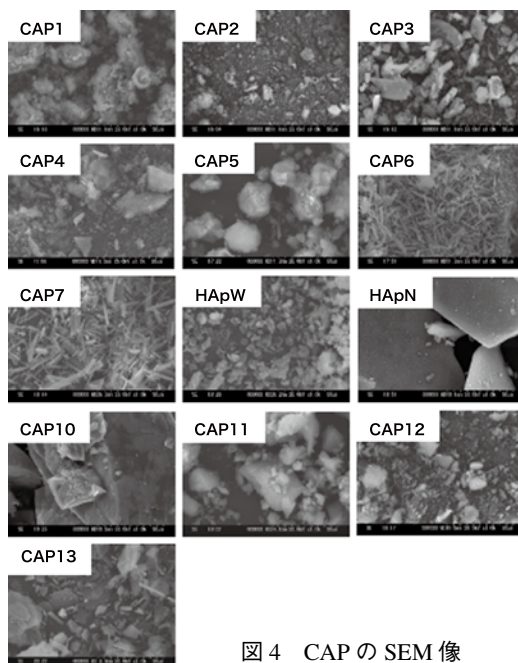


図 4 CAP の SEM 像

表 2 CAP の特性

No.	XRD peak shape	Identification by XRD		Ca/P molar ratio	Specific area m^2/g
CAP1	sharp	CDHA	Monetite	1.43	13.8
CAP2	sharp	CDHA	Monetite	1.37	11.8
CAP3	sharp		Monetite Brushite	1.17	21.9
CAP4	broad	HA		1.67	46.5
CAP5	broad	HA		1.66	26.0
CAP6	very sharp	CDHA		1.54	1.6
CAP7	very sharp	CDHA		1.54	2.4
HApW	very sharp	HA		1.69	4.4
HApN	broad	CDHA		1.45	34.6
CAP10	very sharp		Monetite	1.03	0.6
CAP11	broad	CDHA	Monetite	1.39	61.6
CAP12	broad	CDHA		1.60	58.1
CAP13	broad	HA		1.72	38.8

HA : Hydroxyapatite

CDHA : Calcium-deficient hydroxyapatite, $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$

Monetite : CaHPO_4

Brushite : $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

ンパク質である LYZ (pH7 では正に荷電) と酸性タンパク質である BSA (pH7 では負に荷電) の CAP への吸着試験を行った。LYZ 吸着量は CAP の結晶相や Ca/P モル比に依存せず、比表面積に比例した (図 5)。一方、BSA 吸着量と比表面積との相関はやや低く、BSA の CAP へ

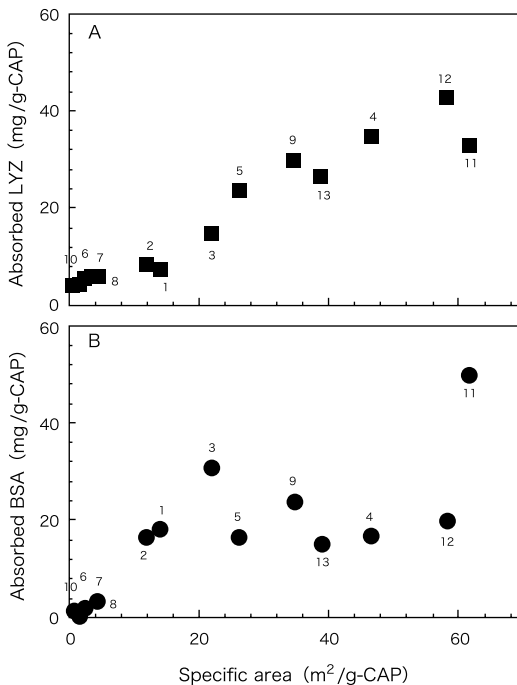


図 5 CAP の比表面積とタンパク質吸着能

LYZ (A), BSA (B)。

図中の数字は、小さい方から CAP1, CAP2, CAP3, CAP4, CAP5, CAP6, CAP7, HApW, HApN, CAP10, CAP11, CAP12, CAP13 を示す。

表 3 Langmuir 型吸着等温線に基づく CAP の吸着特性パラメータ

	LYZ		BSA	
	$q_{\max}$ (mg/g-CAP)	b (mL/mg)	$q_{\max}$ (mg/g-CAP)	b (mL/mg)
CAP3	40.1	2.0	50.8	3.3
CAP4	66.7	2.4	39.1	0.9
HApN	53.0	3.2	37.8	2.9
CAP11	62.9	2.2	76.4	4.8
CAP12	70.4	4.0	40.3	1.7

$q_{\max}$: saturated adsorption capacity

b : Langmuir adsorption equilibrium constant

の吸着に比表面積以外の因子が関与していることが示唆された。さらに、LYZ や BSA 吸着量が比較的高い CAP について、LYZ 及び BSA の吸着等温線を測定した (結果は図示せず)。この等温線に Langmuir 型吸着モデルを適用して、飽和吸着量及び吸着平衡定数を算出した⁹⁾。その結果を表 3 に示した。LYZ の吸着では、CAP12 が最も吸着性に優れ、飽和吸着量 70.4 mg/g, 吸着平衡定数 4.0 mL/mg であった。BSA の吸着では、CAP11 が最も吸着性に優れ、飽和吸着量 76.4 mg/g, 吸着平衡定数 4.8 mL/mg であった。また、CAP11 への LYZ や BSA の飽和吸着量は、市販の HApN よりも大きな値を示した。

2-3. 様々な CAP による清酒タンパク質の吸着除去

清酒に CAP を 5% 添加し、20℃ で 12 時間、攪拌処理後、懸濁液をろ過分離した。ろ液の SDS-PAGE を図 6 に、成分分析の結果を表 4 に示した。処理前の原酒中には 28 kDa, 49 kDa 付近、及び 50 kDa 以上の広い分子量範囲のタンパク質が含まれていた。この原酒を様々な CAP に接触させたところ、LYZ や BSA の吸着

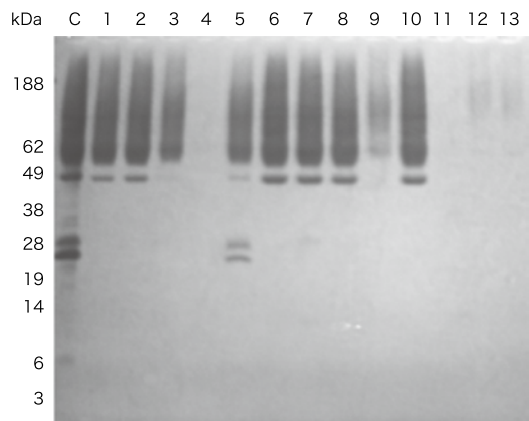


図 6 CAP と接触させた清酒の SDS-PAGE

Lane C: 原酒, 1: CAP1, 2: CAP2, 3: CAP3, 4: CAP4, 5: CAP5, 6: CAP6, 7: CAP7, 8: HApW, 9: HApN, 10: CAP10, 11: CAP11, 12: CAP12, 13: CAP13。

表4 CAPと接触させた清酒の成分分析

CAP	Alcohol (v/v, %)	Acidity (%)	Amino acid (%)	Protein (mg/mL)
Genshu	19.51	2.06	2.32	0.054
CAP1	19.15	1.90	2.50	0.028
CAP2	19.17	2.00	2.41	0.031
CAP3	19.31	1.98	2.48	0.017
CAP4	19.04	0.20	2.29	0.000
CAP5	17.93	0.12	2.49	0.030
CAP6	19.38	2.10	2.60	0.038
CAP7	18.96	1.98	2.61	0.038
HApW	19.06	1.90	2.50	0.034
HApN	18.85	1.83	2.50	0.010
CAP10	18.99	2.20	2.47	0.039
CAP11	19.22	2.09	2.46	0.000
CAP12	19.09	0.49	2.40	0.010
CAP13	18.98	0.24	2.30	0.013

量の高いCAPほど、清酒中のタンパク質濃度が大きく低下したが、CAPの種類によって除去されるタンパク質は異なった。CAPの多くは50 kDa以上の高分子領域のタンパク質を除去できなかったが、CAP4、CAP11、CAP12、CAP13は広い分子量範囲のタンパク質を効果的に除去することができた。特にCAP4やCAP11と接触させた清酒では、SDS-PAGE上でタンパク質バンドがほぼ認められず、タンパク質除去率も100%近かった。成分分析の結果、アミノ酸度やアルコール濃度については、いずれのCAPと接触させた清酒も原酒との差はあまり認められなかったが、タンパク質除去性能の良好であったCAP4、CAP12、CAP13を含め幾つかのCAPでは酸度が大きく低下した。CAP11は清酒のタンパク質除去性に優れ、清酒の酸度やアミノ酸度の変化も少なかった。清酒の味に大きく影響を与える各種アミノ酸の濃度についても検討した。CAP11との接触によるアミノ酸の減少の程度は、アミノ酸の種類にも依存するが、総じて少なかった。7名の酒造技術者をパネラーとして、CAP11接触清酒の官能検査を行ったところ、3名が原酒との差は認められないとし、残りの4名が原酒に比べてすっきりした味であると評価した。

2-4. CAP11による清酒タンパク質除去の最適化

CAP11を用いて、清酒タンパク質の除去の最適化を図った。CAP11の添加量を5%として1～12時間の接触試験を行ったところ、4時間の接触で95%以上のタンパク質が除去され、1時間の接触でも90%以上のタンパク質が除去された（結果は図示せず）。このことから、CAPを用いれば、従来の滓下げと比べて極めて迅速に清酒中のタンパク質を除去できることがわかった。

次に、0.1～10%の範囲でCAP11の添加量を変えて、原酒と1時間接触させた。図7に清酒中のタンパク質濃度を示した。CAP11の添加量に依存して清酒中のタンパク質が除去された。1%のCAP添加量では清酒中のタンパク質の約81%が除去され、5%以上のCAP添加量では90%以上のタンパク質が除去された。また、「甘だれ」の原因酵素であるグルコアミラーゼ³⁾の残存活性もCAP添加量に応じて低下した（結果は図示せず）。1%のCAP添加量では、原酒と比較してグルコアミラーゼ活性が83%残存していた。4%及び5%のCAP添加量では、それぞれ約18%、及び約8%にまで残存活性が低下したことから、CAPによりグルコアミラー

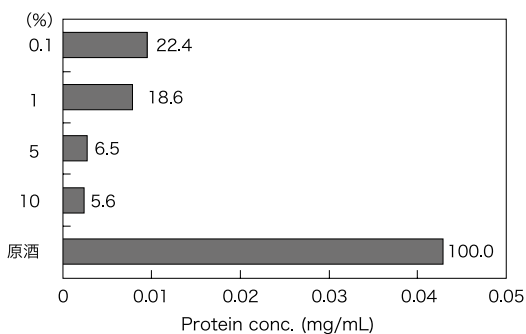


図7 清酒中のタンパク質除去に及ぼすCAP添加量の影響

0.1～10%のCAP11を20℃で原酒と1時間接触後、上清のタンパク質濃度を定量した。図内の数字は、原酒を100としたときのタンパク質残存率を示す。

ゼなどの品質劣化酵素も効果的に除去できることが示唆された。そこで、30℃で2ヶ月間（常温6ヶ月間に相当）、清酒の保存試験を行い、生酒の保存性の指標であるグルコース生成と着色（OD₄₃₀）の経時変化を追跡した。図8にその結果を示した。CAP11 接触清酒のグルコース生成速度や着色速度は、火入れをしていない原酒（生酒）と比べて遅く、火入れ・滓下げ・ろ過清酒（一般清酒）の場合とほぼ同等であった。また、風味も良好であった。このことから、CAP11 処理清酒は、生酒よりも高い保存性を有しており、火入れ・滓下げ・ろ過を行う一般清酒と同等の保存性を有していると考えられた。

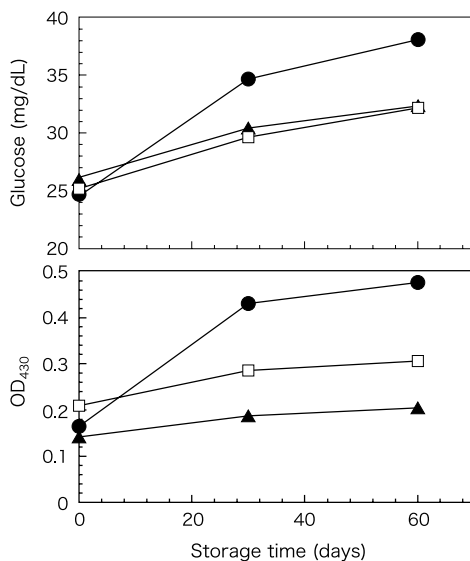


図8 清酒の保存試験

●: 原酒, ▲: 火入れ・滓下げ・ろ過清酒, □: CAP11と接触させた清酒。各清酒を30℃で保存した。

おわりに

清酒の品質を安定に維持するためには、品質劣化に関わるタンパク質を分解または系外に除去することが必要である。清酒中のタンパク質の分解・除去法として、プロテアーゼ処理¹⁰⁾、限外ろ過膜^{3, 11)}、タンパク質吸着剤¹²⁻¹⁴⁾を用いる方法などが提案されている。このうち、タンパク質吸着剤を用いる方法は、吸着剤を清酒に添加後、ろ過するだけのシンプルな方法であるので、大がかりな設備投資を必要とせず、製造現場への導入が容易であると考えられる。本研究において、新規に開発したCAPが清酒中のタンパク質を効果的に除去できることを明らかにした。さらに、従来の「火入れ」、「滓下げ」、「ろ過」工程をCAP処理に代替することにより、生酒でありながら常温流通が可能な新しいタイプの清酒を製造できる可能性が認められた。現在も引き続き、実用化に向けて研究を進めている。

清酒は国酒と言われ、日本の伝統文化と深く結びついて我々の食文化を支えてきたが、最近は清酒離れが顕著である。常温でも品質劣化しにくく、生酒本来のフレッシュさが保たれている清酒を安価で提供し、清酒の復権に貢献したいと考えている。

[謝辞]

本研究の一部は、経済産業省の「中小企業地域新生コンソーシアム研究開発事業」（平成18～19年度）、及び（公財）科学技術交流財団の「共同研究推進事業」（平成22～23年度）の助成を受けて行われた。

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

- 1) 杉田 脩, 蔭山公雄: 清酒醸造中に於ける各成分の変化 (第11報), 醸酵工学雑誌, **36**: 331-335, 1958.
- 2) 近藤恭一, 草間透, 中沢英五郎, 竹村成三: 生貯蔵酒の糖組成, 日醸協誌, **78**: 303-305, 1983.
- 3) 近藤恭一, 大場俊輝, 中村欽一: 限外ろ過による生酒の処理, 日醸協誌, **79**: 267-270, 1984.
- 4) Dorozhkin S, Eppe M: Biological and medical significance of calcium phosphates, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**: 3130-3146, 2002.

- 5) Wang K, Zhou C, Hong Y, Zhang X: A review of protein adsorption on bioceramics, *Interface Focus*, **2**: 259-277, 2012.
- 6) Tiselius A, Hjertén S and Levin Ö.: Protein chromatography on calcium phosphate columns, *Arch. Biochem. Biophys.*, **65**: 132-155, 1956.
- 7) Bradford, M.M.: Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, **72**: 248-254, 1976.
- 8) 注解編集委員会編：“第4回改正国税庁所定分析法注解”，日本醸造協会，p7-33, 1993.
- 9) 近藤精一，石川達雄，安部郁夫：“吸着の科学 第2版”，丸善，p99-101, 2001.
- 10) 関文範，広常正人，濱地正昭，熊谷知栄子：清酒の清澄方法および装置，特開平 11-169163.
- 11) 佐藤信，大場俊輝，高橋康次郎，梅原康夫：限外ろ過法による清酒の蛋白混濁物質の除去，醗酵工学会誌，**55**: 84-94, 1977.
- 12) 布川弥太郎，椎木敏，渡辺泰三：固定化タンニンによる清酒たんぱく混濁母物質の除去，醗酵工学会誌，**56**: 776-781, 1978.
- 13) 西田淑男，山下芳孝，都築通男：たんぱく質除去用濾材，たんぱく質除去方法，並びに滓下げ方法，特開 2008-13865.
- 14) 近藤徹弥，加藤丈雄，児島雅博，伊藤智之，岩田浩明，徳永友博：醸造酒用タンパク質除去剤，特開 2010-154777.

II 型糖尿病モデルマウス (KKAy) における D - カイロ - イノシトール (DCI) の改善効果

小山 智之* 城崎 美幸* 矢澤 一良*

*KOYAMA Tomoyuki, SHIROSAKI Miyuki, YAZAWA Kazunaga (東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科)

Key Words : 糖尿病予防・D - カイロ - イノシトール (DCI) ・機能性食品・インスリン抵抗性改善・KKAy マウス

要 旨

本報告では、II 型糖尿病モデルである KKAy マウスを用いて D- カイロ - イノシトール (DCI) の糖尿病改善作用を検討した。4 週間の試験期間において、5%DCI 含有飼料を摂取したマウスにおいては、糖尿病の進行に伴う血糖値の上昇ならびに、血中インスリン値の上昇が、標準飼料を摂取したマウスと比較して有意に抑制されることが確認された。この結果は KKAy マウスにおいても DCI は糖代謝異常を改善することでインスリン抵抗性を改善し、血糖値を正常なレベルに維持する効果があることを示している。適切な DCI の摂取は、糖尿病の予防・改善に効果的だと考えられる。

はじめに

シクリトールの一種である D - カイロ - イノシトール (D-chiro-inositol ; DCI) は、最も存在比の高いその異性体であるミオイノシトールとともに、天然に広く存在しており、穀類や豆類などの含有成分としても知られている。これらイノシトールは細胞膜リン脂質であるホスファチジルイノシトールの構成要素としても知られており、糖質の代謝にも深く関わっているほか、尿細管でのグルコースの再吸収にも影響を与えることなどの生理作用が明らかにされつつある。また、糖尿病の病態においては生体内の DCI が不足することにより、血糖値調整能力の低下、ならびに標的器官でのインスリン感受性が低下することが知られているが^{1, 2)}、各種動物モデルにおいて DCI 摂取がこれら症状を緩和することが報告されている³⁾。さらに、DCI がインスリンの感受性を改善することに関

連して、多嚢胞性卵巣症候群患者における排卵機能の改善作用⁴⁾、II 型糖尿病患者における脂質・糖質代謝の改善作用⁵⁾なども報告されている。私たちの研究グループにおいても、この DCI の食品としての機能性を研究しており、これまでに糖尿病に起因する骨量減少に対する予防効果を報告している。すなわち、STZ 糖尿病モデルマウスに卵巣摘出手術を施す事で作成した糖尿病 - 骨粗鬆症モデルマウスにおいて、DCI の継続投与が骨量減少を抑制しうることを示した⁶⁾。このように、DCI の糖代謝改善作用については多くの知見が蓄積されつつある。

本稿では、DCI の糖尿病モデルにおけるインスリン分泌改善作用について、II 型糖尿病モデルとして汎用されている KKAy マウスを用いて検討した。

1. 材料と方法

1) 試験サンプル

本研究で用いた D-カイロ-イノシトール (DCI: D-chiro-inositol) は、北興化学工業株式会社から入手した。

2) 実験動物、飼育、管理

雄性 KKAy/TaJcl マウスは 5 週齢のものを日本クレアから購入し、馴化のために一週間予備飼育を行なった後に実験に用いた。マウスの飼育環境は、温度 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 3\%$ に管理しており、仕切り板付き 4 区画飼育ケージの各区画にマウスを 1 匹ずつ入れて個別飼育した。明暗周期は AM8:00 ~ PM8:00 までを明期として 24 時間サイクルとし、水及び飼料は自由摂取とした。なお、本論文の動物実験は、実験動物の飼育および保管などに関する基準（昭和 55 年 3 月 27 日、総理府告示第 6 号）、ならびに東京海洋大学動物実験等取扱規則に基づき、動物実験委員会の承認を得て実施した。

3) 粉末飼料

粉末飼料は AIN93G7) を基本として、市販の原料（オリエンタル酵母）を混合して、標準飼料と 5%DCI 含有飼料との二種類を調製した。5%DCI 含有飼料は、標準飼料 100 g あたり 5 g の割合で DCI を加え、代わりに同量の β コー

ンスターチを減らすことで割合を調節した。

4) 実験プロトコール

マウスは標準飼料 (AIN93G) で一週間予備飼育した後、0 週目の時点（6 週齢）において、平常時血糖値と体重が均等になるように 2 群に群分けした（各群は 10 匹）。コントロール (Control) 群には標準飼料を、サンプル群 (5% DCI) 群には 5%DCI 含有飼料を、各々与えて実験を開始した。

図 1 に実験プロトコールを示した。血液パラメーター（平常時血糖値、平常時血中インスリン値、平常時血中中性脂肪値）については、実験開始から 0, 2, 4 週目に、各々絶食を行わずにマウス尾部より採血し、速やかに 4°C で遠心することにより血漿を調製して市販の各種測定キットで定量した。また、体重、摂餌量、飲水量については、予備飼育中ならびに実験期間中をとおして、4 ~ 7 日間隔で計測した。体重は一個体ごとの計測値で示したが、摂餌量、飲水量については、ケージごとの計測値で示した。

5) 血液パラメーターの測定

上記のとおりマウスの血漿を調製して、以下の市販測定キットを用いて、各血液パラメーターを測定した。すなわち、血糖値 (Glc) は、ムタローゼ・GOD 法に基づいたグルコース CII テストワコー（和光純薬）を用いて、血中インスリン値 (Ins) は、ELISA サンドイッチ法に

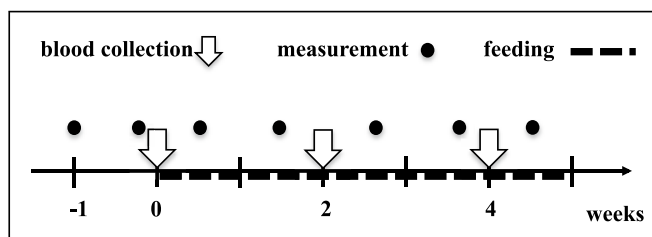


図 1 実験プロトコール

6 週齢の雄性 KKAy マウスに実験用粉末飼料の給餌 (feeding) を開始した時点をも、実験開始日すなわち 0 週目とした。実験開始後、0, 2, 4 週目に、マウス尾部より採血し (blood collection)、各血液パラメーターを測定した。体重、摂餌量、飲水量は 3 日から 5 日に一回計測 (measurement) した。

よる超高感度マウスインスリン測定キット（森永生科学研究所）を用いて、血中中性脂肪値（TG）は、トリグリセライド E-テストワコー（和光純薬）を用いてそれぞれ測定した。

6) 統計処理

データは平均値±標準誤差で示した。検定は二群間で Student's *t*-test を行い、*p* 値が 0.05 未満の場合に有意な差であると判断した。

2. 結果と考察

本実験において KKAY マウスを 4 週間飼育したところ、期間中の摂餌量（図 2A）、飲水量（図 2B）、体重（図 2C）の経時変化には、5%DCI 群と Control 群との間に有意な差はみられなかった。これらのことから、DCI は今回用いた

量では、見かけ上のエネルギー摂取や代謝には影響を与えるものではないと推定している。

一方で、血液パラメーターには以下の変化が確認された。平常時血糖値（Glc）、平常時血中インスリン値（Ins）、平常時血中トリグリセリド値（TG）の経時変化を、0 週目の対照群の値を 100% として表した。この 0 週目の Control 群と 5% DCI 群のそれぞれの数値は、平常時血糖値で 406.4 ± 51.2 mg/dl, 414.1 ± 44.2 mg/dl, 平常時血中インスリン値で 11.6 ± 1.7 ng/ml, 16.3 ± 1.9 ng/ml, 平常時血中中性脂肪値で 246.3 ± 27.0 mg/dl, 220.4 ± 18.3 mg/dl であり、各群間には有意な変化は見られなかった。図 3 に示した通り、平常時血糖値は、Control 群で 0 週、2 週、4 週と経時的に上昇したが、5%DCI 群では 2 週目および 4 週目において Control 群

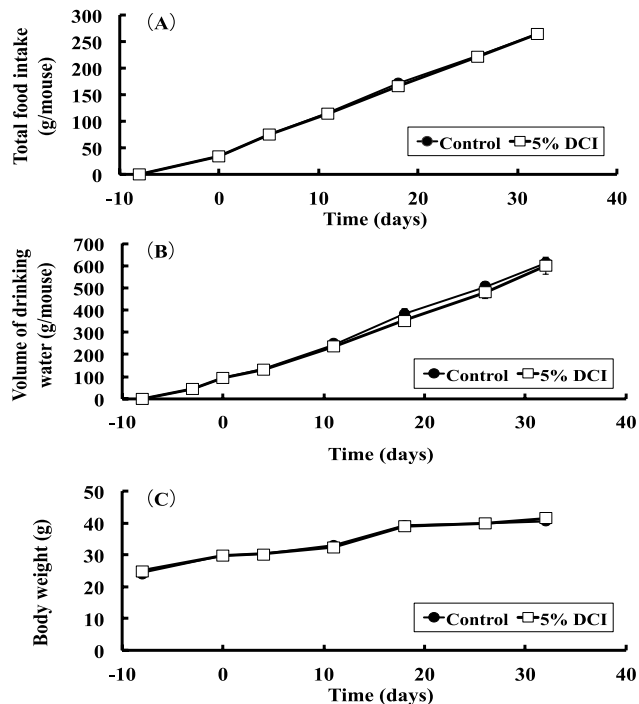


図2 実験期間における KKAY マウスの摂餌量 (A)、飲水量 (B)、体重 (C) の変化

予備飼育期間と試験期間(4週間)のデータを示した。0日目の実験開始時に、コントロール群(●)には標準飼料を、5%DCI 群には 5%DCI 含有飼料に切り替えた。摂餌量は、各群ごとに計測し、群のマウス匹数で除して 1 匹当りの数値を算出した。飲水量、体重は、各マウスごとに計測し、平均値±標準誤差で示した。

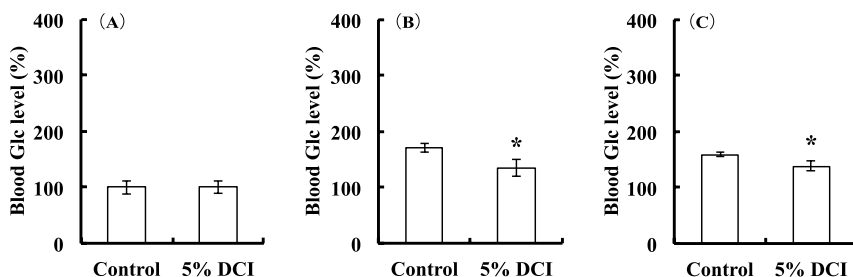


図3 平常時血糖値に及ぼす DCI の影響

試験開始0週目 (A), 2週目 (B), 4週目 (C) に採血して, 血糖値 (Glc) を測定した。各血糖値は0週目の数値を 100% として変化率を求め, 平均値±標準誤差で示した (n=10)。*: $p<0.05$ vs 対照 (Control) 群。

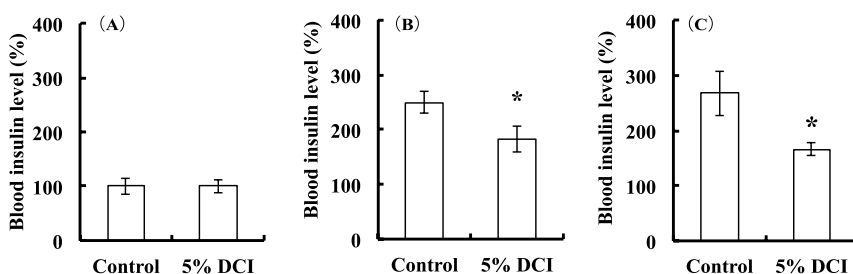


図4 平常時血中インスリン値に及ぼす DCI の影響

試験開始0週目 (A), 2週目 (B), 4週目 (C) に採血して, 血中インスリン値を測定した。各血中インスリン値は0週目の数値を 100% として変化率を求め, 平均値±標準誤差で示した (n=10)。*: $p<0.05$ vs 対照 (Control) 群。

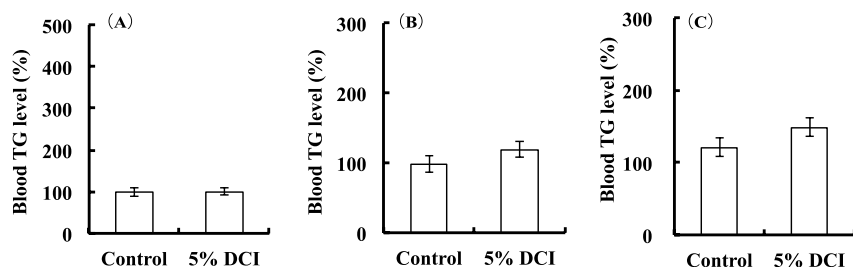


図5 平常時血中トリグリセリド値に及ぼす DCI の影響

試験開始0週目 (A), 2週目 (B), 4週目 (C) に採血して, 血中中性脂肪値 (TG) を測定した。各中性脂肪値は0週目の数値を 100% として変化率を求め, 平均値±標準誤差で示した (n=10)。

と比較して有意な上昇の抑制を示した。このことから, DCI は糖尿病発症過程における高血糖状態への移行を抑制することが示された。図4に示した通り, 平常時血中インスリン値 (Ins) も Control 群では経時的に上昇したが, 5%DCI 群では Control 群と比較して2週目および4週

目において有意な抑制作用を示した。この結果から, DCI は糖尿病における代謝不全によって引き起こされるインスリンの分泌の増加を抑制する作用を有することが示された。図5に示した通り, 平常時血中中性脂肪値 (TG) も, Control 群では経時的に穏やかな上昇を示した

が、5%DCI 群では僅かに上昇傾向が見られるものの、Control 群と比較して有意な差は認められなかった。

正常な代謝系では、膵臓で生成されたインスリンは標的器官において、細胞膜内に存在するインスリン受容体と結合することで、血液中のグルコースを細胞内に取り込ませる。この受容体とインスリンとの結合により、細胞膜上でホスホリパーゼが活性化されてグルコシルホスファチジルイノシトールが加水分解されることで、イノシトールホスホグリカン (IPG) インスリンメディエーターとジアシルグリセリドを生成する⁸⁾。この IPG インスリンメディエーターのうち、DCI とガラクトサミンを含有するものが、ピルビン酸脱水素酵素とグリコーゲン合成酵素の各々を脱リン酸化する酵素の働きを促進させることで、これらグルコース代謝に関与する酵素を活性型に変えて、結果的にグルコース代謝を促進させることが知られている⁹⁾。II 型糖尿病患者の場合、ミオイノシトールから DCI への生合成経路に欠陥があるため、糖代謝異常やインスリン抵抗性を生じることが知られている。これまでに、GK ラット^{3,10)} やアカゲザル¹¹⁾ においても、DCI の経口投与がグルコース代謝の加速とインスリン感受性低下の改善を示すことが報告されている。経口投与により外部から補給された DCI が、インスリン標的器官における生合成の不具合を調節している事で、部分的に糖代謝異常やインスリン抵抗性を改善し、血糖値が正常化すると考えられている¹²⁾。本論文において示した通り、KKAy マウスにおいても DCI の継続投与は血糖値上

昇を抑制し、インスリン抵抗性を改善する作用を示す事ができた。今後は、DCI の混餌量や摂餌期間を変化させるなどの条件を変化させることで、今回見られた作用をより詳細に検討するための実験データを充実させる必要があるが、本食品素材についての糖尿病予防・改善効果に関するデータは様々な実験モデルにおいても示されており多いに期待されるものである。

本研究において、DCI の 4 週間摂取は、糖尿病モデルマウスである KKAy マウスにおいて、血糖値上昇とインスリン分泌増加の両方を抑制した。このことから、本実験モデルにおいても DCI は血糖値を正常なレベルに維持する効果があることを示している。血中インスリン量の増加抑制は、血糖値レベルの正常化をうけたものであり、糖代謝異常を改善することでインスリン抵抗性が改善されたことによると考えられる。適切な DCI の摂取は、血糖値の上昇を抑制する事で糖尿病の発症ならびに症状の進行を防ぎ、糖尿病の改善並びに合併症の予防に効果的だと考えられる。

総括

本報告において、KKAy マウスを用いて DCI の作用を検討した結果、5%DCI 含有飼料による飼育を 4 週間継続することで、血糖値の上昇ならびに、血中インスリン値の上昇を有意に抑制する作用が確認された。これらのことから、DCI は、KKAy マウスにおいても糖代謝異常を改善することで、インスリン抵抗性を改善する作用を有することが示された。

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

- 1) Kennington, A. S., Hill, C. R., Craig, J., Bogardus, C., Raz, I., Ortmyer, H. K., Hansen, B. C., and Romero, G. N., : Low urinary chiro-inositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng. J. Med.*, **323**: 373-378, 1990.
- 2) Ortmyer, H. K., Bodkin, N. L., Lilley, K., Larner, J., and Hansen, B.,: Chiroinositol deficiency and insulin

- resistance. I. Urinary excretion rate of chiroinositol is directly associated with insulin resistance in spontaneously diabetic rhesus monkeys. *Endocrinol.* **132**: 640-645, 1993.
- 3) Suzuki, S., Taneda, Y., Hirai, S., Abe, S., Sasaki, A., Suzuki, K., and Toyota, T., : Molecular mechanism of insulin resistance in spontaneous diabetic GK (Goto-Kakizaki) rats. In *New Directions in Research and Clinical Works for Obesity and Diabetes Mellitus*. Angel, A., Hotta, N. eds. Elsevier, 197-203, 1991.
 - 4) Nestler, J. E., Jakubowicz, D.J., Reamer, P., Gunn, R. D., Allan, G.,: Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *New Eng. J. Med.*, **340**: 1314-1320, 1999.
 - 5) Kessler, C., Allan, G., Larner, J., : D-chiro-inositol improves insulin and glucose profiles in human subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes*, **47**: A358-A358, 1999.
 - 6) 矢澤一良, 中島千絵, 小山智之: 糖尿病—骨粗しょう症モデルマウスにおける D - カイロ - イノシトール (DCI) が骨重量に与える影響, *Food Style* **21**, **14**: 23-25, 2010.
 - 7) Reeves, P. G., : Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J. Nutr.* **127**: 838S-841S, 1997.
 - 8) Romero, G., Luttrell, L., Rogal, A., Zeller, K., Hewlett, E., and Larner, J., : Phosphatidylinositol-glycan anchors of membrane proteins: Potential precursors of insulin mediators. *Science*, **240**: 509-511, 1988.
 - 9) Larner, J., : Multiple pathways in insulin signaling - Fitting the covalent and allosteric puzzle pieces together. *Endocrine J.*, **2**: 167-171, 1994.
 - 10) Sun, T. H., Heimark, D. B., Nguyen, T., Nadler, J. L., Larner, J., : Both myo-inositol to chiro-inositol epimerase activities and chiro-inositol to myo-inositol ratios are decreased in tissues of GK type 2 diabetic rats compared to Wistar controls. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **293**: 1092-1098, 2002.
 - 11) Ortmeyer, H. K., Huang, L. C., Zhang, L., Hansen, B., and Larner, J., : Chiroinositol deficiency and insulin resistance. II. Acute effects of D-chiroinositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load, and spontaneously insulin-resistant rhesus monkeys. *Endocrinol.*, **132**: 646-651, 1993.
 - 12) Larner J., : D-chiro-inositol--its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance. *Int. J. Exp. Diabetes Res.*, **3**: 47-60, 2002.

慢性腎臓病（CKD）を予防するコーヒーの薬理学

鈴木 聡^{*1} 岡 希太郎^{*2}

^{*1} SUZUKI Satoshi (HAB 研究機構), ^{*2} OKA Kitaro (東京薬科大学)

Key Words: コーヒー・慢性腎臓病・推算糸球体ろ過量・抗酸化作用・尿酸排泄作用

はじめに

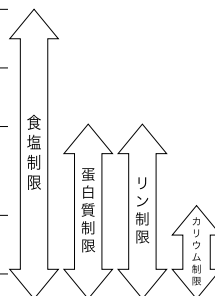
慢性腎臓病（CKD）が重症化するケースを減らすため、日本腎臓学会は「CKD 診療ガイド」を作り、かかりつけ医が間違いなく診療に取り組めるよう、主にタンパク尿と推算糸球体ろ過量（eGFR）の2点に絞って CKD という新しい病名を定義した¹⁾。CKD の重症度は、血清クレアチニン（SCr）値から計算して求める eGFR の数値とタンパク尿の有無に基づいて診断される（表1）。そのため日常の健康診断でも SCr を測定する機会が増えている。そうし

て求めた eGFR をできるだけ高く保って CKD の進行を抑えれば、元氣な老後を実現できると、学会も行政も期待している。しかし、eGFR を高く保つ食生活となると、食事制限以外には示されていない。

表1に示すように、CKD の食事療法の基本は減塩であるが、ステージの進行にともなってタンパク質、リン、カリウムの制限というように厳しさを増してゆく。反面、積極的に食べると良い食品はほとんどない。ステージ4になると野菜や果物でさえ「カリウム過剰」という

表1 CKD のステージと対応

ステージ (病期)	重症度	eGFR 値	対応方法	
			診療	食事制限
	ハイリスク群 (腎障害はないが、高齢、高血圧、高尿酸、糖尿病、脂質異常などがある)	≥ 90	健康診断で CKD をチェック 喫煙や肥満などの CKD リスクを減らす 生活改善	
1 期	タンパク尿などの腎障害があるが、eGFR は正常または亢進	≥ 90	上記に加えて、 ータンパク尿などの治療	
2 期	タンパク尿などの腎障害があり、かつ eGFR 軽度低下	60 ~ 89	上記に加えて、 ー腎障害進行度のチェック	
3 期	eGFR 中等度低下	30 ~ 59	上記に加えて、 ー腎不全合併症のチェック(貧血、高血圧、 二次性副甲状腺機能亢進症など)	
4 期	eGFR 高度低下	15 ~ 29	上記に加えて、 ー透析または腎移植の準備を開始	
5 期	腎不全	< 15	透析または腎移植の導入	



$$\text{eGFR (男)} = 194 \times \text{Scr}^{-1.094} \times \text{age}^{-0.287}, \text{ eGFR (女)} = \text{eGFR (男)} \times 0.739$$

理由で制限されてしまう。同じくコーヒーも1日1杯までと制限される。このような背景の下、2010年と11年に発表されたコーヒー飲用とeGFRの関係を示す調査結果^{2,3)}は示唆に富んでいる。コーヒー飲用がeGFRを高く保つというヒト試験結果⁴⁾も興味深い。コーヒーとCKD予防の関係が明らかになれば、コーヒー以外にもeGFRを高く保つ食べものが見つかる可能性もある。そこで本稿では、加齢とともに進行する腎臓の老化について概説し、次にコーヒーがCKDを予防する薬理学について考察する。尚、コーヒーと血清尿酸値の負の相関については、本誌既刊も参照されたい⁵⁾。

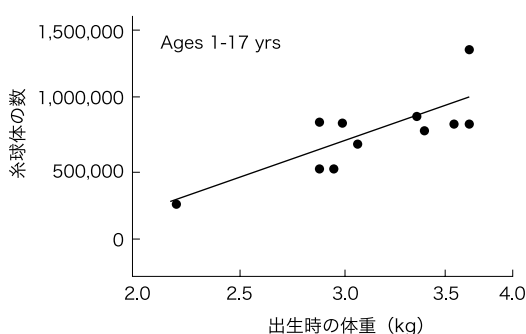


図1 出生体重と糸球体数の関係¹⁾

1. 糸球体の数と機能

腎臓病に罹らなくても、加齢とともにeGFRは低下する(表1欄外の数式を参照)。これは腎臓の老化ともいえる現象で、主な原因は健全な糸球体の数の減少である。80歳のeGFRは20歳の半分程度しかない⁶⁾。糸球体の数は生まれながらに定まっており、一生を通じて増えることはない。数の個人差は出生時の体重に依存して、出生時体重が軽いほど糸球体の数が少ない(図1)⁷⁾。また、出生時体重が軽いほど、成人してからの高血圧⁷⁾やCKDの発症率が高い⁸⁾。生まれつきの糸球体の数が少ないほど腎臓の老化は早く進行し、加えて腎炎などを経験すれば年相応以上に糸球体の数が減ってしまう。

図2左はボーマン囊に包まれた糸球体の血管断面とろ過障壁を示している。糸球体のろ過障壁を構成しているのは、血管腔側から順に、内皮細胞、基底膜、足細胞の3つであり、これらが一体となって糸球体のろ過障壁を構成している。糸球体の機能障害とはろ過障壁の障害であり、最近の研究によれば、最も障害を受けやすい部位は多数の突起をもつ複雑な形をした足細胞であると考えられている(図2右)。足細胞

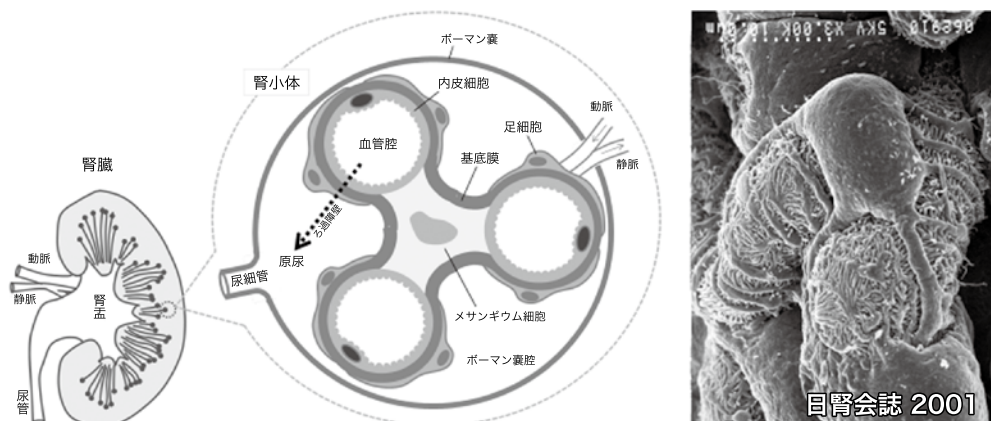


図2 糸球体のろ過障壁(左)と足細胞の電顕写真(右)

は、一旦傷害を受けると再生されることがない。

腎機能には代償性があるので、糸球体の数が多少減ったとしても、残っている糸球体の機能が健全ならば、eGFR が直ちに減少することはない。問題は、糸球体の数の減少が eGFR に影響するほど大きくなったときである。加齢にともなって CKD が顕在化するの、eGFR の慢性的な低下にともなって、血液タンパク質（アルブミン）が尿中に漏れだすときであり、そうになると CKD は急速に悪化する。

図3は、年齢と SCr 値の関係について、日本人と米国人を比較したものである⁹⁾。人種によって差があることがわかる。図4は、40歳台の日本人について、SCr 値の区分ごとに、年齢と eGFR の関係をシミュレートした結果である¹⁰⁾。この図から判断すると、男女ともに40歳台の数値が60を下回っていると、平均余命に到達する頃には相当に危険な状態になることがわかる。図5は、日本人の年齢別 CKD 人口の割合を示している。女性では70歳、男性では80歳で、人口のほぼ半分が CKD ステージ3以上になっている。

血液中のクレアチンは、その全量がろ過障壁を通過してボーマン嚢腔にろ過され、尿管を通過して排出される（図2左）。糸球体老化の研究では、ろ過障壁のなかでも特に再生不能な足細胞の傷害が eGFR 低下とタンパク尿の最大の原因とされている。

さて、コーヒーを飲んでいる人の eGFR は飲まない人より 7.7% 高い²⁾。この差を図4を使って年齢差に換算してみると、少なくとも10年程度に相当している。言い換えればコーヒーを飲むという日常的生活習慣で10年若返るということなので、

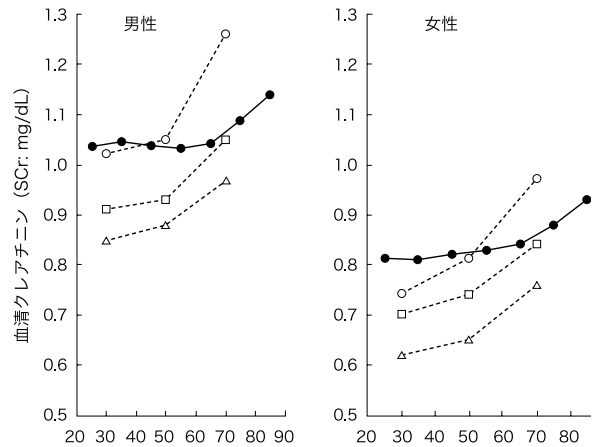


図3 年齢と血清クレアチン値の関係⁹⁾

●は日本人の数値、□は米国の白人、○は米国に住む黒人、△は米国に住むメキシカンの数値である。

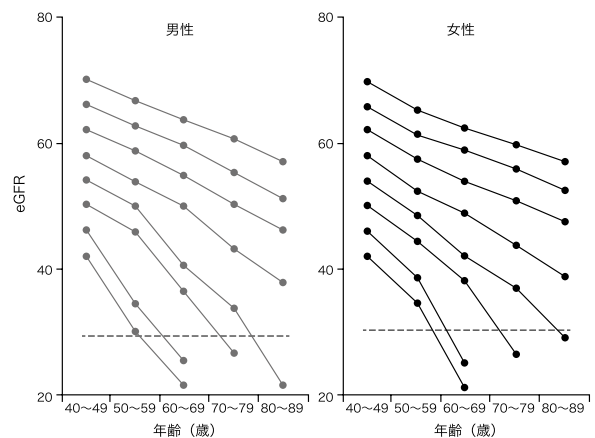


図4 加齢にともなう腎機能低下のシミュレーション¹⁰⁾

40歳代の eGFR 区分毎に将来を予測した。

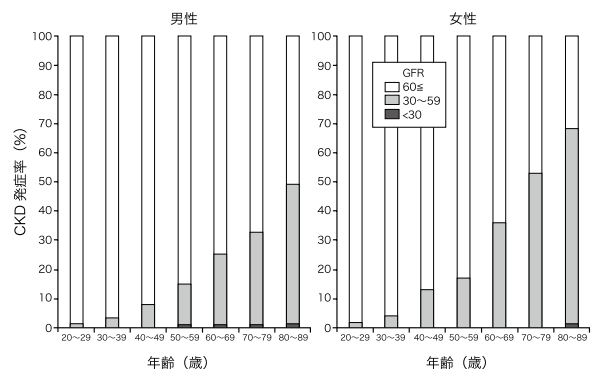


図5 年齢別にみた CKD 発症率 (%)⁹⁾

CKD 患者数は加齢にともなって増加する。

コーヒーは健康長寿にとって無視できない存在なのである。

2. 栄養状態

霊長類の寿命を延ばす唯一の確実な方法はカロリー制限である。言い換えれば、過剰な栄養摂取は老化を早める。サルを使った実験では、自由に摂餌した群とカロリー制限して育てた群では、30年間で明らかな差が観察されている。単に寿命が異なるというだけでなく、運動能力や生理学的機能に差が生じる。何故そうなるのか十分な説明があるわけではないが、納得できる理由として、カロリー制限群に見られる細胞のオートファジー（自食）現象が大事である。

オートファジーとは、細胞内で過剰に作られたタンパク質や、酸化傷害などで生じた異常なタンパク質を分解する仕組みのことである。オートファジーは栄養状態が悪くなると活性化するので、細胞生存のために不必要な栄養をリサイクルする仕組みとも考えられている。カロリー制限食で飼育しているサルの場合は、細胞内の不要なタンパク質が再利用されるので、細胞内から病気の原因が取り除かれ、寿命が延びると考えられている。

以前からカフェインがオートファジーを誘導することが知られていたが、そのシグナル伝達経路は不明であった。最近になって服部らは、種々の細胞を使った実験で、カフェインがPI3K/Akt経路を刺激してオートファジーを誘導することを見出した¹¹⁾。ただしカフェインまたはコーヒーが、哺乳類の寿命を延ばすという証拠は上がっていない。

3. 酸化障害

細胞内で過剰に産生される活性酸素、なかでもヒドロキシラジカル ($\text{HO}\cdot$) は、膜を構成する脂肪酸を酸化して膜を破壊し、あるいは機能性タンパク質を不溶化して細胞の生存を危うくする。このような変化が糸球体で進行すると、ろ過障壁を破壊してeGFRの低下を招くと考えられる。

過剰な活性酸素を消去するシグナル伝達系として、核転写因子Nrf2が注目されている。通常Nrf2は図6に示すように、細胞質のKeap1と結合して安定化しているが、活性酸素のような酸化性物質が近づくと可動化し、核へ移行して抗酸化物質応答配列(ARE)に結合する。すると抗酸化性の小分子や抗酸化タンパク質の遺伝子が発現して、細胞を酸化傷害から保護する役目を果たすようになる¹²⁾。図6は、酸化性物質に代わってコーヒー成分がNrf2を可動化し、抗酸化シグナル伝達を活性化することを示している。Nrf2によって発現する抗酸化物質の種類は多く、身体のいたるところで酸化傷害を防いでいると考えられる。

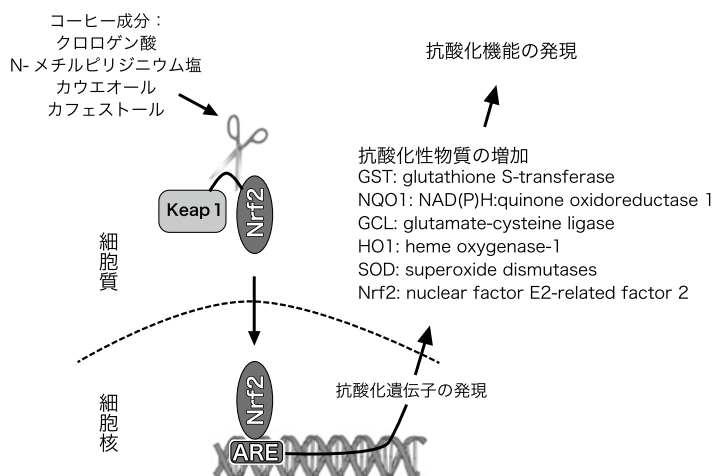


図6 Nrf2の抗酸化作用を増強するコーヒー成分の作用機序

Zheng らは、Nrf2 (+/+) と (-/-) マウスを作製して、ストレプトゾトシン (STZ) で惹起した腎炎に対する Nrf2 刺激物質 (スルフォラファンまたは桂皮アルデヒド) を投与し、(+/+) マウスにおける腎炎治療効果を初めて確認した¹³⁾。コーヒー成分に関しては、生豆成分のクロロゲン酸と焙煎で生じる N-メチルピリジニウム塩 (NMP) に図 6 に示す Nrf2 刺激効果が認められている¹⁴⁾。一方、カウエオールやカフェストールのようなコーヒーゲルペン類も Nrf2 を刺激するが、これらの化合物は高脂血症を引き起こすので有用とは言い切れない。

4. 高血圧と高脂血症

腎動脈壁から分泌されるレニン、レニン-アンジオテンシン系 (RAS) を動かして、血圧を高めるアンジオテンシン II (Ang II) を産生する。RAS の過剰な働きによる高血圧は CKD の原因であり、そのため高血圧症の第 1 選択薬として RAS を抑制する腎保護性の降圧薬が推奨されている。糸球体が酸化傷害を受けやすいことは、糸球体の内圧がもともと高いことにも起因するが、高血圧があると CKD リスクが更に高まる。

食塩の摂り過ぎで血圧が上昇しても、腎血流量が増加しないために、ナトリウム排泄に支障をきたす人がある。このような人を non-modulator と呼んでいるが、その高血圧の治療には RAS 抑制薬が奏効する。コーヒーにも、過剰な Ang II に対する血管抵抗を弱める効果が知られている¹⁵⁾。この効果はカフェインに基づくとの論文もあるが、すべてを矛盾なく説明することはできていない。

近年、ドプラーエコーで測定する腎動脈の血管抵抗が CKD のマーカーになるとの指摘がある。血管抵抗の増加は高血圧に起因するし、タンパク尿の原因にもなると考えられている。

高血圧と同様に高脂血症も CKD リスクを高めている。腎機能を保護して eGFR を高く維持するには、高血圧と高脂血症に早めに対処し、CKD リスクを減らしておく必要がある。

ところで高血圧または高脂血症の素因のある人がコーヒーを飲むと、血圧または血中脂質が上昇する。コーヒーが血圧を上げる原因は焙煎で生じるヒドロキシヒドロキノン (HHQ) にある (既刊 Vol.53, No.9, 2011 を参照されたい)。また、コーヒーが高脂血症を引き起こす原因はゲルペン類にあり、北欧での疫学調査によれば、ペーパードリップ式の淹れ方でゲルペン類を除去できるとのことである。コーヒーを誰でも飲める安全な飲み物とするためには、それなりの工夫が必要なのである。

5. 高尿酸血症

高血圧と連動しやすいもう 1 つの病気は高尿酸血症である。尿酸代謝とコーヒーの関係については既に本誌で解説した⁵⁾。本稿ではごく最近になって明らかになった実験データを追加する。

体内の尿酸の 2/3 は腎臓から排泄されるが、残りの 1/3 は消化管など腎外臓器から排泄される。しかしその部位とメカニズムが不明だったため、痛風や高尿酸血症の薬物治療が、尿酸の腎外排泄に配慮して行われることはなかった。最近になって東京薬大の市田らは、小腸の輸送タンパク質である ABCG2 (別名 BCRP) が尿酸の腎外排泄のほとんどすべてを担っていることを明らかにした¹⁶⁾。

市田らの論文から図を引用して説明する。従来の考え (図 7 左) では、体内でできる尿酸が蛇口 A からバケツ (血液を表わす) のなかに注入されると血清尿酸値が上昇する。注入の速度が排泄速度を上回ると、過剰産生型の高尿酸血症になる。一方、血中尿酸を尿中へ排泄する出口 B に障害が生じると、過少排泄型の高

尿酸血症になる。蛇口 A と出口 B に同時に障害が生じると合併型となる。これに対して新たな考え（図 7 右）では、出口が 2ヶ所になってやや複雑である。A1 は従来と同じ過剰産生型、A2 は腎臓ではなく腸の出口が働かない腎外過少排泄型と関係している。A1 と A2 の障害はどちらも腎臓に過度な負担を強いる腎過重型の高尿酸血症の原因となる。一方 B は従来と同じで、腎臓の排泄機能だけに障害が生じる腎過少排泄型と関係している。

高尿酸血症の原因がどうであれ、血清尿酸値は eGFR と負の相関を示し、CKD の危険因子になっている^{17,18)}。血清尿酸値は通常の健康診断で必ず測定されるので、もし高値であれば食生活習慣を改善して、CKD の予防に役立てる切っ掛けになる。とはいえ尿酸排泄を促進する食生活としては、アルコールを避けて尿酸再吸収を抑制する以外によい方法はなかった。牛乳を飲めば尿酸排泄が速くなることは解っていたが、牛乳のカロリーが高いことで敬遠されていた。しかし最近になって、牛乳に含まれているオロト酸と体内でできる尿酸が、尿酸トラン

スポーター URAT1 を競合していることが明らかになった¹⁹⁾。

尿酸の腎外排泄に関しても示唆的な論文がある。慶応大薬の田村は、大腸がんを予防するコーヒーについて研究し、焙煎コーヒーに含まれている未知の成分が ABCG2 の遺伝子発現を活性化することを見出した²⁰⁾。上記した市田らの結果とあわせると、コーヒーは尿酸の腎外排泄経路を活性化して、高尿酸血症を改善するということになる。図 7 で見るならば、コーヒー成分は A2 経路を活性化して血清尿酸値を下げるのである。

以上をまとめると、尿酸排泄を促進する食習慣を工夫することで、腎臓の老化を遅らせて eGFR を高く保つ可能性が示されている。

6. 老化抑制遺伝子

霊長類の寿命と関係する複数の遺伝子が知られている。なかでも Klotho（クロトー）と呼ばれる遺伝子は、腎臓の老化を抑制する遺伝子として急速に注目を浴びつつある（特集：Klotho

と腎臓病・腎と透析：2012 年 3 月号）。この遺伝子をノックアウトしたマウスには早老現象が現われるし、逆に過剰に発現させれば寿命が延びる。

Klotho 遺伝子で作るタンパク質は、リンを尿中に排泄する役割を果たしている。何らかの原因で Klotho が抑制されるとリンの蓄積が起こるので、それが腎臓の老化現象を促進する。CKD ステージ 3 でリン摂取を制限するわけは、リン蓄積が糸球体血管の石灰化を招き、ろ過障壁を破壊して、CKD の更なる増悪を招くからである。Klotho の活性化を持続できれば、腎機能が保たれると指摘されているが、具体的な方策は見

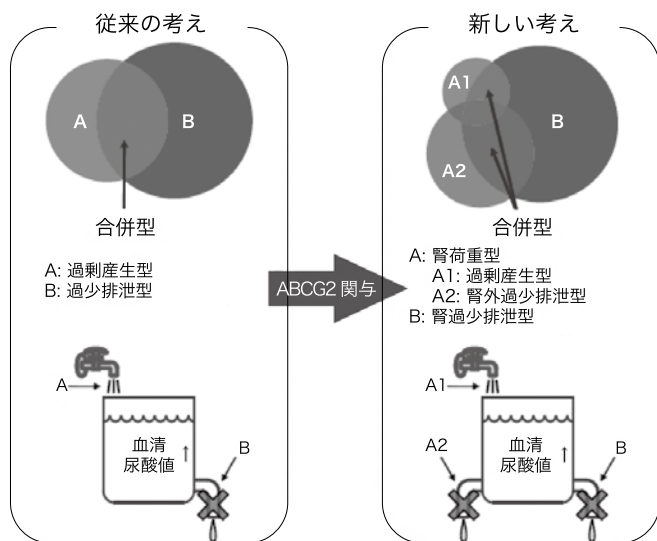


図 7 尿酸排泄経路と再吸収経路が関与する高尿酸血症の分類¹⁶⁾

コーヒーは A2 経路を活性化して血清尿酸値を下げている。

つかっていない。

コーヒー成分に関して、Klotho との関係が調べられた研究はまだない。

7. 糖化最終産物など

コーヒー豆を焙煎すると、アミノ酸（またはタンパク質）とグルコースが反応して、独特の香りの他に、不揮発性で茶褐色の混合物が産生する。後者はメラノイジンと呼ばれてきた。近年になって、糖尿病患者の血液中に蓄積する HbA1c からメラノイジン様混合物が産生することがわかり、新たに糖化最終産物（AGEs）と命名された。AGEs には膜結合型の受容体（RAGE）の存在が明らかになっている²¹⁾。

竹内らは AGEs を個々の産生経路に基づいて分類し、グリセルアルデヒドから生じるものを有毒 AGE（TAGE）と呼んで、無毒な種類と区別することを提案している²²⁾。TAGE が膜結合型の RAGE に結合すると、細胞内に酸化障害が惹起されるとの仮説であるが、現在までのところ体内で産生する AGEs が腎毒性を発現するとの確かな知見はない。

一方、RAGE には膜結合型の他に血液中に溶けている遊離型がある。遊離型は膜結合型のデコイとなって、血液中の過剰な AGEs と結合して無毒化するとの説もある²¹⁾。高温で焙煎したコーヒーは AGEs（メラノイジン）を豊富に含むので、もし腎毒性をもつ TAGE が含まれていれば疫学調査に反映される可能性がある。しかしこれまでのところ、コーヒー飲用によっ

て腎機能が低下するというような報告は皆無なので、コーヒーには TAGE が含まれていないか、または遊離型 RAGE のデコイ説が成立しているのかも知れない。更なる精査が求められる。

最後に、AGEs とは別途に、腸内細菌由来のインドキシル硫酸と *p*-クレシル硫酸の腎毒性が疑われている。これらの血中濃度の上昇と CKD ステージの進行を関連づける多数の報告があり、そのため薬用活性炭（クレメジン® 田辺三菱）を服用して吸着除去する方法が実用化されている²³⁾。その一方で、コーヒーに多く含まれている繊維質が腸内菌叢に作用するとの報告も多くあるが、腎毒性との関係が調べられたことはない²⁴⁾。

おわりに

本誌の今年 1 月号⁵⁾ に高尿酸血症を予防するコーヒーの効果について書いたばかりなのに、3 月の NHK ニュースが新たな尿酸排泄経路として ABCG2 を報道した。コーヒーが ABCG2 を活性化すること、牛乳のオロト酸と尿酸が尿細管にあるトランスポーター URAT1 を競合的に共有することなどをあわせれば、コーヒーが高尿酸血症を予防するとの疫学調査結果を更によく理解できる。食べものを工夫して eGFR を高く保つことができるになれば、腎臓の老化を遅らせるだけでなく、腎臓以外の臓器にとっても健康長寿の基礎ができる。医薬品では追いつかない予防医学への期待を、食べもので実現できるならそれに越したことはない。

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

- 1) 日本腎臓学会編. CKD 診療ガイド 2009, 東京医学社（東京）, 2009.
- 2) Kotani K, Sakane N, Yamada T, *et al.* Association between coffee consumption and the estimated glomerular filtration rate in the general Japanese population: preliminary data regarding C-reactive protein concentrations. *Clin Chem Lab Med*, **48**:1773-1776, 2010.
- 3) Nakajima K, Hirosw K, Ebata M, *et al.* Association between habitual coffee consumption and normal or

- increased estimated glomerular filtration rate in apparently healthy adults. *Br J Nutr*, **103**:149-152, 2010.
- 4) Saito M, Nemoto T, Tobimatsu S, *et al.* Coffee consumption and cystatin-C-based estimated glomerular filtration rates in healthy young adults: results of a clinical trial. *J Nutr Metab*, 2011:Article ID 146865
 - 5) 鈴木 聡, 岡 希太郎. 痛風 / 高尿酸血症を予防するコーヒーの薬理学. *New Food Ind*, **54**:1-11, 2012.
 - 6) Wiggins J. Why do our kidneys get old? *Nephron Exp Nephrol*, **119**(suppl 1):e1-e5, 2011.
 - 7) Bagby SP. Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: Pathways of nutritional programming. *J Nutr*, **137**:1066-1072, 2007.
 - 8) Bertram JF, Douglas-Denton RN, Dious B, *et al.* Human nephron number: implications for health and disease. *Pediatr Nephrol*, **26**:1529-1533, 2011.
 - 9) Imai E, Horio M, Iseki K, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease (CKD) in the Japanese general population predicted by the MDRD equation modified by a Japanese coefficient. *Clin Exp Nephrol*, **11**:156-163, 2007.
 - 10) Imai E, Horio M, Yamagata K, *et al.* Slower decline of glomerular filtration rate in the Japanese general population: a longitudinal 10-year follow-up study. *Hypertens Res*, **31**:433-441, 2008.
 - 11) Siki S, Sasazawa Y, Imamichi Y, *et al.* Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. *Autophagy*, **7**:176-187, 2011.
 - 12) 伊東 健. Nrf2 酸化ストレス応答系による病態制御. *生化学*, **81**:447-455, 2009.
 - 13) Zheng H, Whitman SA, Wu W, *et al.* Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes*, **60**:3055-3066, 2011.
 - 14) Boettler U, Volz N, Pahlke G, *et al.* Coffees rich in chlorogenic acid or N-methylpyridinium induce chemopreventive phase II-enzymes via the Nrf2/ARE pathway *in vitro* and *in vivo*. *Mol Nutr Food Res*, **55**:798-802, 2011.
 - 15) Trovato GM, Pirri C, Martines GF, *et al.* Coffee, nutritional status, and renal artery resistive index. *Renal Failure*, **32**:1137-1147, 2010.
 - 16) Ichida K, Matsuo H, Takada T, *et al.* Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nature Commun*, **3**:764, 2012.
 - 17) Gibson T. Hyperuricemia, gout and the kidney. *Curr Opin Rheumatol*, **24**:127-131, 2012.
 - 18) Feig DI. Uric acid-a novel mediator and marker of risk in chronic kidney disease? *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **18**:526-530, 2009.
 - 19) Miura D, Anzai N, Jutabha P, *et al.* Human urate transporter 1 (hURAT1) mediates the transport of orotate. *J Physiol Sci*, **61**:253-257, 2011.
 - 20) Isshiki M, Umezawa K, Tamura H. Coffee induces breast cancer resistance protein expression in Caco-2 cells. *Biol Pharm Bull*, **34**:1624-1627, 2011.
 - 21) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, *et al.* Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med*, **7**:112-119, 2010.
 - 22) Takeuchi M, Yamagishi S. Alternative routes for the formation of glyceraldehyde-derived AGEs (TAGE) *in vivo*. *Med Hypotheses*, **63**:453-455, 2004.
 - 23) Liabeuf S, Dru ke TB, Massy ZA. Protein-bound uremic toxins: new insight from clinical studies. *Toxins*, **3**:911-919, 2011.
 - 24) Arya M, Rao LJM. An impression of coffee carbohydrates. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **47**:51-67, 2007.

「安全な食品のハザード分析表」を作成している理由

柳本 正勝*

* YANAGIMOTO Masakatsu (食品安全安心研究所)

Key Words：食品の安心・食品の安全性・ハザード分析表・HACCP

はじめに

食品は多くのハザードを持っているけれども、有効な措置を講ずることにより安全性が保たれている。この事実は、食品に含まれているハザードの全体像を把握しておくことが食品の安全性を確保するうえの前提条件となることを示している。このような考え方に基づいて「安全な食品のハザード分析表」の作成に取り組んでいる。

本稿では、ハザード分析表の特徴とその活用を説明することにより、ハザード分析表が食品安全分野における基礎資料になることを示す。

1. ハザード分析表は食品毎に作成する

提案しているハザード分析表の第一の特徴は、食品毎にハザードをまとめることである。食品事業者はもちろん消費者も食品毎のリスクが知りたいはずである。大きな書店に行くと食品衛生・食品の安全性に関する本が並んでいる。したがって、食品毎にハザードをまとめた資料はすぐ見つかるように思える。

ところが実際には見つからないのである。少なくとも日本にはない。海外のことは十分調べてはいないので存在する可能性が否定できない

が、これまでに関連学会で数回発表したけれども存在を指摘されたことはないので、広く知られた資料はないと確信できる。あるとしてもヨーロッパのどこかでローカルに公表されているケースである。

上に述べた食品衛生に関する書籍では、全食品を対象にしてハザードを種類毎に羅列的にまとめている。代表的な書籍である食品衛生学会が編集した食品安全の事典¹⁾とか食品安全ハンドブック²⁾もそうになっているし、厚生労働省の関連サイト³⁾も同様である。

ハザード分析表のような資料が何故これまでに作成されていないのだろうか。その理由は、ハザード分析表の意義が理解されていないためと思われるが、それだけでは説明し難い。食品を特定してそれが持つハザードを挙げると、国民を惑わせると懸念するためと想像している。食品衛生の専門家による取り組みが期待できないのであれば、食品分野での研究経歴の長い筆者が取り組むことにした。

ここで強調しておきたいことがある。対象とする食品は、日本で広く流通していて普通に食べられている、すなわち安全な食品である。ハザード分析表作成の目的の一つは、安全な食品にもリスクが存在すること明示することであ

る。食品にハザードの存在することは当然であって、それをきちんと制御しているのが安全な食品と理解する。少ししか食べられていない食品を対象にすると、ハザードが少ししか挙らないにかもしれない。しかしながら、このことは安全性に関する知識の蓄積が足りないことを示すだけであって、当該食品の安全性が高いことを意味するわけではない。

2. ハザードをフードチェーンに沿ってリストアップする

ハザード分析表の第2の特徴は、ハザードをフードチェーンに沿ってリストアップすることにある。これに関連して、ここで提案しているハザード分析表と HACCP⁴⁾ の関係を説明しておく。HACCP の HA は Hazard Analysis であり、一般には危害分析と訳されている。これは誤訳と信じているのでハザード分析の用語を採用しているが、ハザード分析の英語も当然 Hazard Analysis である。ハザード分析表は HACCP とは別の視点からのアプローチであるけれども、同じ用語を採用しているようにその概念には共通部分が多い。

両者の重要な違いの一つは、HACCP ではフードチェーンを通じてという Codex の理念とは異なり、実際には対象とするハザードを食品加工過程に集中させている。HACCP を超える厳密な措置が講じられている製パン分野の AIB 食品安全統合基準⁵⁾ですら、その対象は食品加工過程に留まっている。これに対しハザード分析表では、表1に示したようにフードチェーン全体を対象にしている。その点では、ハザード分析表の方が Codex の HACCP の理念に忠実である。

ハザード分析表でフードチェーン全体を流れに沿ってリストアップするのは、食品安全分野で強調されているフードチェーンアプ

表1 ハザードをリストアップする順序

食材本来	成分 随伴物
産業段階	農業生産過程 食品加工過程 運搬保管過程 販売過程
消費者段階	

ローチに準拠するためである。表1に示したように、フードチェーンには消費者段階も含まれる。こう書くと当然と思われるかもしれないが、ハザード分析表のように産業段階（食品供給行程）と消費者段階を統合して取り扱うことはほとんどない。消費者段階は消費者への情報提供として別個に取り扱われる。さらに、ハザード分析表では食材本来のハザードを産業段階の前に置いている。従来も自然毒という捉え方はあったが、それ以外では農業生産過程で付加されるハザードと食材が固有に持っているハザードを区別することはなかった。食品の持つハザードとして両者が性質を異にすることは明らかである。同じ趣旨で、農業生産過程で付加されるとは言い難い随伴物のハザードも農業生産過程から分離して、食材本来の一部として記述することとしている。

ここで強調しておきたいことがある。HACCP の危害分析においても、フードチェーンに沿ってハザードをリストアップしておくことは重要と信じられる。全体像を把握しておく、危害分析での知見を豊富にしてくれる。

3. ハザードを網羅的にリストアップする

3つ目に挙げるが、ハザード分析表の最大の特徴はハザードを網羅的にリストアップすることである。この作業は、ハザード分析表の目的そのものである。

ハザードを網羅的にリアスタップするとい

う考え方は、HACCP の理念でもある。HACCP 原則 1 の危害分析では、最初に可能性のある全てのハザードのリストを作成することになっている。ところが、HACCP での危害分析は重要管理点の対象となるハザードを絞り込む手順として位置付けられているためか、ハザードを網羅することはおざなりとなり勝ちで、実際には法令で規制されているハザード（後述の規制ハザード）と消費者がすぐ気の付くハザードに限られている。特に総合衛生管理製造過程あるいは高度化計画に準じた危害分析では、重要管理点の対象ハザードは食中毒菌と異物に集中する。さらに、HACCP は管理手法なので、管理ができないハザードは無視する傾向がある。豆腐 HACCP の危害分析では⁶⁾、管理できないハザードは対象としないと明記している。

ハザード分析表では、ハザードを全て挙げるという Codex の理念に忠実である。作成の目的がリスクの全体像を把握すること自体なので、むしろ徹底している。

4. 認識ハザードの提案

ここで改めてハザードの意味を確認しておく。食品安全委員会の用語集をみると、ハザードの定義は「人の健康に悪影響を及ぼす原因となる可能性のある食品中の物質または食品の状態」である。これは Codex の定義⁷⁾の訳であり、広く採用されている。ただし、可能性 (potential) の解釈であるが、一般には限定的に解釈されているようにみえる。ハザード分析表ではなるべく広義に捉えたいので、可能性とは非常に低いものまで含まれると解釈する。

ハザードを広く捉えることは本取り組みの趣旨として当然ではあるが、仕事を始めると直ぐに困難に遭遇した。言葉通りに解釈すると、食材の成分及び付加された物質の全てがハザードになってしまうのである。これではメタボロー

表 2 食品の持つハザードの区分

1. 規制ハザード	日本のリスク管理機関が強制力を伴う規制をしているハザード
2. 認識ハザード	疑う余地があるハザード 国民の中に懸念する声があるハザード
3. 一般ハザード	無視できるハザード 知られていないハザード

ムの勉強が必要となる。食材の全成分を解明することは、ハザード分析表の目的ではない。表を長くするだけのハザードは邪魔ですらある。そこで取り上げる必要がないすなわち無視できるハザードを一般ハザードと呼び、リストアップの対象から外すことにした。念のためであるが、表 2 に記述しておいたように知られていないハザードも含まれる。これは残念であるが、知られていないのだから手立てがない。

そうすると取り上げるべきハザードを規定する必要が出てくる。これに関し食品安全分野の専門家に問うと、健康への影響が科学的に立証される物質と教えてくれる。この意見は魅力的であるが、実際には採用し難い。科学的根拠のあるハザードが何かが実ははっきりしない。一覧表が作成されているわけではなく、しかるべき資料もない。リスク評価を所管する食品安全委員会の評価報告書ですら、その内容をみると評価対象がハザードかどうか判然としない例が少なくない。しかも評価報告書のある物質はまだ少ない。

科学的根拠があるかどうかよりも法令で規制されているかどうかの方が確実である。そこで法令で規制されているハザードを規制ハザードと名付けた。定義としては「日本のリスク管理機関が強制力持って規制しているハザード」としている。実際には法令によって規制されているか判然としない例も少なからず存在するが、本稿ではその事実を指摘するだけに留める。

さて、ハザードを規制ハザードと一般ハザードに区分し、規制ハザードをリストアップするだけでは、ハザード分析表作成の目的には不十分なことは明らかである。法令で規制されていないけれども疑う余地のあるハザードも存在する。そこでこの目的に叶うハザードを認識ハザードと呼び、ハザード分析表では規制ハザードと認識ハザードを網羅することとした。表2には、ここで説明した食品が持つ3つに区分のハザードとその意味をまとめている。

認識ハザードの概念を導入することにより、ハザードを網羅的にリストアップすることが可能になった。ここで指摘しておきたいことに、疑う余地があるという曖昧な表現から分かるように、認識ハザードは一義的に規定されないことがある。認識ハザードの部分は、作成する者により表の内容が異なる。ハザードは自明のことと信じている専門家にとって不自然かもしれないが、実際にはハザードかどうかは必ずしも明確ではない。とはいえ、むやみに挙げるのが目的ではないので、原則として信頼できそうな資料に記述されているものとする。ここに、資料の内容を信頼するかどうかで作成する者の判断の違いが出る。また、実際に作業していると必要と思えるけれども資料が見つからない場合もある。そのような場合は作成者の責任で採用する。この部分は、当然作成する者の見解が出る。ハザード分析表では更に踏み込んで、認識ハザードに「国民に懸念する声がある」を含めている。

ハザード分析表は、食品事業者版・消費者版などステークホルダー毎に、認識ハザードの部分は異なるハザード分析表ができる。食品事業者版は現場を踏まえた具体的ものになるであろう。消費者版は見聞きする中で感じているハザードも挙げることになる。リスク管理機関のハザード分析表は認識ハザードが少しだけかもしれない。筆者が作成しているのは食品専門家

版である。

5. ハザード分析表の構成

牛乳のハザード分析表を例に、その一部を表3に示した。作成した牛乳のハザード分析表は、この少し縮小したサイズで本誌11ページ程度の長さである。上で述べたように、規制ハザードと認識ハザードをリストアップするので、ハザード分析表は二段になる。表3はそれぞれの上部である。

表3に表れているのは、実は生乳の部分である。というのは、牛乳の原料である生乳が持つハザードは牛乳に移行するとみなすので、牛乳のハザードは生乳のハザードに加えて牛乳の食品加工過程等で付加されるハザードで構成する。つまり、規制ハザードと認識ハザードがそれぞれに畜産業生産過程(生乳)・食品加工過程等(牛乳)の2層となる。表3は牛乳のハザード分析表であるが、生乳の部分の先に挙げるので、上の一部にすると生乳の部分になる。

それぞれのハザードは、表4に示した8つの項目について特性を簡潔に記述する。どちらも重要なのは、①と②である。規制ハザードには対応法令があるのでそれを②法令に記述し、その法令による規制の内容を①規制の内容に記入する。認識ハザードでは通常それを指摘した資料があるので②資料に書き、資料の種類または内容を①認識の事由に記述する。②資料では簡潔に表記するので、アクセスできない読者がいるかもしれない。そこで詳しく記述した資料一覧を別途作成し、そこにリンクを張っている。

③～⑧の項目は該当する知見のある場合に記述する。これらの記述内容は簡潔すぎるかもしれないが、将来的にはハザードから信頼あるサイトにリンクを張り、補うことを考えている。なお、表3を良く見ていただくと、表4の⑥事業者の責務と⑦消費者の責務の部分は下の註書

表3 牛乳のハザード分析表 (一部)

食中毒発生状況：なし

摂取量：84.1g/日

紙パック入り牛乳を想定

規制ハザード

カテゴリー	ハザード	規制の内容	リスク評価	危害/違反の頻度	主な危害	低減・回避措置	低減・回避の程度	備考	法令
原料食材	β-ラクトグロブリン	表示義務			アレルギー症状	製品への表示	大幅に回避		規格基準
	α _{s1} -カゼイン	表示義務			アレルギー症状	製品への表示	大幅に回避		規格基準
	畜産業生産過程								
	大気由来物質								
原料食材	PCB	暫定規制値 (0.1ppm)			ホルモン異常	取引契約条件	一定の効果	カネミ油症 事件	規格基準
	農薬 (289 種)							未登録農薬、失効農薬を含む数	規格基準
	アルドリン	暫定基準値 (0.006ppm)			神経毒	取引契約条件	一定の効果	ディルドリンとの和	規格基準
	プロシミドン	暫定基準値 (0.04ppm)	評価中			取引契約条件	一定の効果		規格基準

認識ハザード

カテゴリー	ハザード	認識事由	非規制の事由	安全性調査	主な危害	低減・回避措置	低減・回避の程度	備考	資料
原料食材	脂肪	行政資料	自己責任	食事摂取基準 評価報告書	生活習慣病				食事摂取基準
	トランス脂肪酸	専門書	含有量が低い		心疾患				ミルクの事典
	乳糖	専門書	症状が軽微		低ラクターゼ症				先端機能
	フェニルアラニン	専門書	新生児の問題		フェニルケトン尿症	情報提供	一定の効果	新生児用 特殊ミルク	先端機能
	ヒスチジン	専門書	新生児の問題		ヒスチジン血症	情報提供	一定の効果	新生児用 特殊ミルク	先端機能
	メチオニン	専門書	新生児の問題		ホモシスチン尿症	情報提供	一定の効果	新生児用 特殊ミルク	先端機能
随伴物	分岐アミノ酸	専門書	新生児の問題		メーブルシリロップ尿症	情報提供	一定の効果	新生児用 特殊ミルク	先端機能
	ブリオン	作成者	科学的に否定		クロイツフェルト・ヤコブ病			は乳動物由来たんぱく質は規制対象	
	畜産業生産過程								
	環境汚染物質 ダイオキシン	EU	含有量が低い	農水プロファイル	奇形発生				農水省サイト

表4 ハザードの特性を記述する項目

規制ハザード	認識ハザード
①規制の内容	①認識の事由
②法令	②資料
③リスク評価	③非規制の事由
④危害／違反の頻度	④安全性調査
⑤主な危害	⑤主な危害
⑥事業者の責務	⑥事業者の責務
⑦消費者の役割	⑦消費者の役割
⑧備考	⑧備考

⑥と⑦は、⑥軽減・回避措置、⑦軽減・回避の程度、等に差し替えることがある

きにある⑥低減・回避措置と⑦軽減・回避の程度となっている。前述のように生乳のハザードは牛乳に移行するとみなすが、その一方で牛乳工場では持ち込まれるハザードの軽減・回避措置を講じているので、その努力を反映させる方が実情に則すると考えるためである。

6. これまでにハザード分析表を作成した食品

作成したハザード分析表は既に15品目（17種）に達している（表5）。品目名をご覧いただくと、「安全な食品」の意味が理解されるはずである。これらは関連学会の発表を経て、サイト⁸⁾で公開するよう心掛けている。なお、個人のサイト「食の郷」⁹⁾からもアクセスできるようにしてある。

このような表を300品目について作成すれば、本取り組みの目的は達成される。この数字は必ずしも精査したものではないが、国民健康・栄養調査（99品目）では少なすぎるけれども、食品成分表（1,878品目）ほど詳しい必要でないとの判断に基づいている。ハザード分析表も食品群内では互いに似てくる。

7. ハザード分析表の活用を期待するステークホルダー

まず期待したいのは食品事業者である。食品事業者は食品安全基本法が規定するまでもなく、市場に流通する食品の安全性の確保について第一義的責任を有している。ここに食品事業者とは加工業者だけでなく、農業生産者、運送事業者、販売事業者、外食事業者も含まれることはいうまでもない。特にHACCPを導入している食品事業者には、その危害分析を精査するための内部資料としてハザード分析表が活用できる。食品事業者が作成するハザード分析表には企業の個別の事情も含まれるべきである。したがって、食品事業者が作成するハザード分析表は公表すべき性質のものではない。

次ぎに消費者がある。ハザード分析表では認識ハザードの枠を設けてあるので、ここに日頃気になっているハザードを加えると、納

表5 ハザード分析表を作成した食品

	食材・生鮮食品	加工食品	料理・調理食品
食品	玄米 白米 トマト 豚肉 小麦 大豆 生乳 牛乳	パン 小麦粉 豆腐 チーズ ヨーグルト 調整粉乳	ご飯（内食）
別プロセス			ご飯（中食） ご飯（外食）

得できるハザード分析表になる。専門家から科学的根拠がないと一蹴されるようなハザードであっても、懸念しているハザードとして掲載することができる。また勉強会において、話題となっているハザードだけでなくハザード分析表を合わせて教材にすれば、食品安全確保における当該ハザードの位置付けが容易になると考えている。

そして、リスク管理機関である。リスク管理機関はリスクミでの活用とリスク管理での活用が期待される。消費者とのリスクミの場では通常特定のハザードを議論の対象としている。これではゼロリスクを求める声が出るのは当然である。ハザード分析表を参照資料とすれば、食品がゼロリスクでないことを説明し易いと考えている。また、リスク管理機関は、フードチェーン全体の中で食品の安全性を捉えるべき立場にある。安全な食品のハザード分析表を作成しておけば、個別の業種の食品安全性向上策を練るうえで、便利な資料になると信ずる。

おわりに

最後に、ストーリーから外れるので触れなかったが、言及しておきたいことを述べる。ハザードを網羅的にリストアップする目的の一つは、遠くない将来に起きるかもしれない重大な危害をもたらすハザードの候補を挙げておくことである。だからこそ、網羅的にリストアップすることに拘っている。この問題は、リスク分析ではリスク特定¹⁰⁾とされる。しかしながら、リスク特定では重大な事件が発生した後の対処方策に聞こえる。もっと緊迫感を持ちたい。実は工業分野のリスク分析ではリスク特定の前にリスク発見¹¹⁾を設けており、逼迫感がある。ハザード分析表では、その原因となるかもしれないハザードをリスク発見よりもっと厳しく挙げておこうとしている。だから、重大な事件を引き起こすかもしれないハザードほど批判を怖れずに載せることにしている。

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

- 1) 日本食品衛生学会(編): 食品安全の事典, 朝倉書店, 東京, 2009
- 2) 編集委員会: 食品安全ハンドブック, 丸善, 東京, 2010
- 3) 厚生労働省サイト: http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/index.html
- 4) CODEX: CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003 - Annex, Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system and Guidelines for its Application
- 5) AIB 食品安全衛生部: AIB 食品安全統合基準, <http://www.foodsafety.jp/6down/standard/stdlar.pdf>
- 6) 日本豆腐協会: 「豆腐安全確保システム構築」マニュアル, 第2部 豆腐類の HACCP システムの実務, p46, 2000
- 7) CODEX: CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003, Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene
- 8) 安全な食品のハザード分析表: <http://www.geocities.jp/shokunews/HASheets/index.htm>
- 9) 食の郷: <http://www18.ocn.ne.jp/~shokusa/>
- 10) CODEX: 13th Procedural Manual, Working Principles for Risk Analysis for Application in the Framework of the Codex Alimentarius
- 11) JIS Q 2001: リスクマネジメントシステム構築のための指針

沖縄県産紅イモのアントシアニン色素について

山田 恭正*

* YAMADA Yasumasa (同志社女子大学 生活科学部 食物栄養科学科)

Key Words：紅イモ・カンショ・色素・アントシアニン

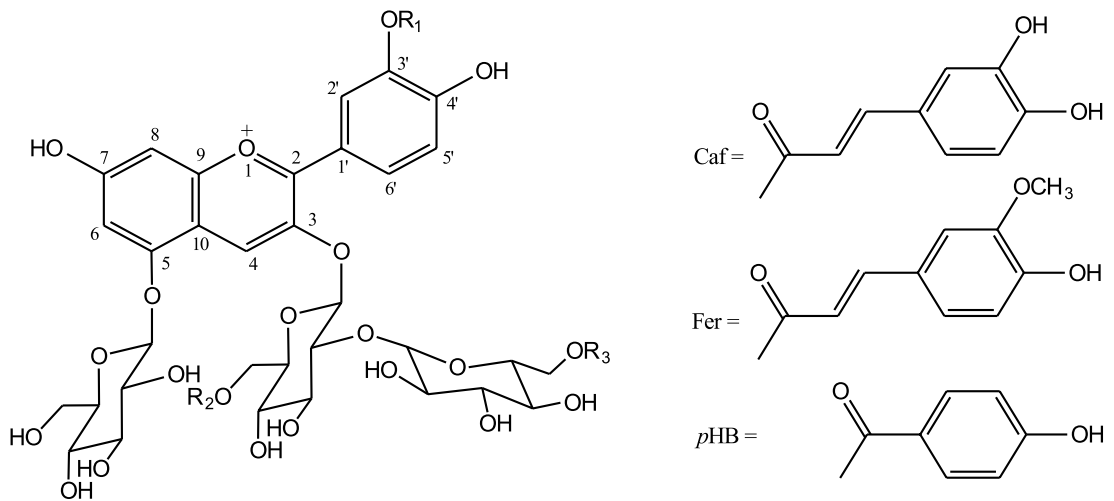
最近、日本人の平均寿命が延びるにしたがって一般の人々の健康に対する関心が高くなった。また、医療費の増大を抑制することが社会的な問題としてクローズアップされている。これらの状況を背景として生活習慣病の予防が必要であると認識されるようになった。そのため日常の食生活、睡眠、運動、とりわけ食生活が重要であると考えている人々が多い。ここでは、食品に含まれている成分が人間の健康に役立つような生理機能、すなわち「食品の第三次機能」を発揮すると期待される食品の一つとして赤紫系統の色素を含むカンショ（甘藷）について述べる。因みに栄養機能が「食品の第一次機能」、色、味、香など人間の感覚器に訴え、嗜好性に関わる機能が「食品の第二次機能」に分類されている。

カンショは中南米原産のヒルガオ科の植物で学名は *Ipomoea batatas* である。日本へは中国から、進貢船の総官をしていた野国総官（ノグニ・ソウカン）によって 1605 年沖縄（当時の琉球）に伝えられた。その後、島内で儀間真常（ギマ・シンジョウ）によって栽培が広められ、現在、日本各地で栽培されている。カンショは約 400 年間におよび栽培の歴史の中で、米作に適さない土壌地域において栽培可能な農作物と

して、また米の不作時期や戦中戦後の食糧難における救荒作物として重要な位置を占めてきた食用植物である。このような背景のもとで新品種の作出が試みられ実績を上げてきた。

品種改良としては、収穫量の多い品種、食味性（甘味）の良い品種、台風等の自然災害に強い品種、イモゾウムシ等の害虫に抵抗性を持つ品種、立枯病（タチガレビヨウ）等の病害に強い品種などを選抜、育種する方向で進められて来た。また、根塊部が黄色または紫色の有色甘藷は、黄色の濃いカロテン含有量の多い品種と紫色の濃いアントシアニン含有量の多い品種に二大別される。

ここでは先ずはじめに、農林水産省の研究機関である九州農業試験場で行われたアントシアニン含有量の多いカンショの研究について述べる。アントシアニンを含むカンショとして、これまで最もよく研究されてきたのは「アヤムラサキ」という品種である。アヤムラサキは、九州農業試験場と民間の共同育成品種で「九州 109 号」と「サツマヒカリ」の交配から作出され、平成 7 年に品種登録された。食味性はあまり良くないが、色素含有量が多いため食品着色料としての色素抽出用、加工用として用いられている。カンショのアントシアニンは後で述べ



アントシアニン	R ₁	R ₂	R ₃	構成
1	H	H	H	Cya・Sop・Glc
2	H	Caf	H	Cya・Caf・Sop・Glc
3	H	Caf	Caf	Cya・diCaf・Sop・Glc
4	H	Caf	pHB	Cya・Caf・pHB・Sop・Glc
5	CH ₃	Caf	H	Peo・Caf・Sop・Glc
6	H	Caf	Fer	Cya・Caf・Fer・Sop・Glc
7	CH ₃	Caf	Caf	Peo・diCaf・Sop・Glc
8	CH ₃	Caf	pHB	Peo・Caf・pHB・Sop・Glc
9	CH ₃	Caf	Fer	Peo・Caf・Fer・Sop・Glc

図1 有色カンシヨ (*Ipomoea batatas*) に含まれるアントシアニンの化学構造

Cya, cyanidin; Peo, peonidin; Caf, (*E*)-caffeic acid; Fer, (*E*)-ferulic acid; pHB, *p*-hydroxybenzoic acid; Glc, glucopyranoside; Sop, sophoroside.

るように、他の野菜・果物に含まれるアントシアニンよりも比較的熱や光に対して安定であり、ジュース、醸造酢やワイン風発酵酒などの加工原料としても利用されている。

次に、沖縄における有色甘藷の育種に関するこれまでの展開について述べる。宮古農事試験場で育種された紫系統の「宮農 36 号」に代わり、平成に入って「備瀬 (ビセ)」が沖縄本島中部に位置する読谷 (ヨミタン) 村で試作された。「紅イモで村おこし」をスローガンに栽培が広がり、平成 11 年に「備瀬」は沖縄県の奨励品種に決定した。その結果、「沖縄の紅イモ」を材料に用いた菓子類が、観光事業の進展にとも

なってお土産として国内で知られる端緒となった。その後、そのまま焼き芋にしても食味の良い「沖縄紫 (オキユメムラサキ)」が育種選抜され、平成 19 年に新品種として登録された⁴⁾。さらに、今年平成 24 年に安定多収な加工用紅イモとして「ちゅら恋紅 (コイベニ)」が新品種登録された。現在、県の奨励品種に採用されている紅イモは「宮農 36 号」「備瀬」「アヤムラサキ」「沖縄紫」「ちゅら恋紅」の 5 種であるが、「宮農 36 号」と「アヤムラサキ」は、沖縄ではほとんど栽培されなくなった。加工用紅イモの消費量が堅調に伸びているため、現在紅イモは需要増の傾向にある。

ここで、紅イモの今後の育種選抜の方向性や加工・利用の展望について述べてみたい。これまで紅イモは、その特有の色調と食感によって主に菓子類の加工原料として用いられており、今後も重要な用途であることに変わりはない。しかし、紅イモが持つ第三次機能を生かした食品の展開も可能性を秘めていると考えられる。アントシアニンの生理機能については試験管内レベル (*in vitro*)、実験動物レベルがほとんどで、抗酸化活性による広義のアンチエイジング効果、抗変異原性、アンジオテンシンⅠ変換酵素阻害活性による血圧上昇の抑制、 α -グルコシダーゼ阻害活性による血糖値上昇の抑制など多数の報告がある。しかし、ヒトを対象にした研究例は少ない。アヤマラサキを原料にして調製されたジュースをヒトが摂取した研究では、肝機能 (GOT, GPT, γ -GTP, LDH, 総ビリルビン値の低下) の改善効果, AChE (アセチルコリンエステラーゼ) の阻害によると考えられる最大血圧 (収縮期血圧) の低下効果などの生理機能について報告されている。アヤマラサキに含まれる主要なアントシアニン8種類であるが、ジュース摂取後に血漿中で検出されたアントシ

アニンは2種類のみである。すなわち、小腸では8種類のアントシアニンの内で特定の2種類のみが選択的に吸収され得るということが示された^{5, 6)}。これら2種類はモノアシル化アントシアニンの cyanidin 3-O-(2-O-(6-O-(E)-caffeoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranoside)-5-O- β -D-glucopyranoside (2) と peonidin 3-O-(2-O-(6-O-(E)-caffeoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranoside)-5-O- β -D-glucopyranoside (5) であった (図1)。

沖夢紫には、非アシル化アントシアニンの cyanidin 3-O-(2-O- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranoside)-5-O- β -D-glucopyranoside (1) とモノアシル化アントシアニンの2がアヤマラサキに比べて多く含まれているという特徴がある⁷⁾。したがって、沖夢紫は吸収され易い化学構造のアントシアニンを含むため、ヒトが摂取することによって生理機能を効果的に発現することが期待される。

沖縄における紅イモの育種選抜の歴史と実績を踏まえて、紅イモの特色を生かした付加価値の高い地域ブランドとして展開して行くことによって地域の発展に寄与することが望まれる。

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

有色カンショとアントシアニン全般に関して

- 1) 大庭理一郎, 五十嵐喜治, 津久井亜紀夫 (編), 「アントシアニンー食品の色と健康ー」, 建帛社 (2000).
 - 2) 清水孝重, 中村幹雄 (著) 藤井正美 (監) 「新版・食用天然色素」, 光琳 (2001).
 - 3) (財)いも類振興会 (編), 「サツマイモ事典」, 全国農村教育協会 (2010).
- 「沖夢紫」に関して
- 4) 大見のり子, 「沖縄県におけるカンショ試験研究のあゆみ」, (財)日本特産農作物種苗協会, 特産種苗, 第6号 21-25 (2010).
 - 5) Tomoyuki Oki, Ikuo Suda, Norihiko Terahara, Maki Sato, Minoru Hatakeyama, "Determination of acylated anthocyanin in human urine after ingesting a purple-fleshed sweet potato beverage with various contents of anthocyanin by LC-ESI-MS/MS." *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 2540 -2543 (2006).
 - 6) Katsuhisa Harada, Mitsuyoshi Kano, Tomomi Takayanagi, Osamu Yamakawa, Fumiyasu Ishikawa, "Absorption of acylated anthocyanins in rats and humans after ingesting an extract of *Ipomoea batatas* purple sweet potato tuber." *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 1500-1507 (2004).
 - 7) Yasumasa Yamada, Noriko Oomi, Miho Yamane, Nobuji Nakatani, "Anthocyanins in red sweetpotato (*Ipomoea batatas* cv. okiyumemurasaki)", *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **19**, 59-63 (2012).

ペプチドと血管力向上

小林 優多郎* 松井 利郎*

*KOBAYASHI Yutaro, MATSUI Toshiro (九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門 食料化学工学講座)

Key Words：ペプチド・血管機能・血管平滑筋・Ca²⁺ シグナル・動脈硬化予防

はじめに

健康維持を補完する保健機能成分を含む食品として「特定保健用食品」が登場して以来、これまで 1002 品目（平成 24 年 7 月 12 日現在）の食品が認可を受けており、その市場規模は 2011 年度において 5175 億円に上る。消費者庁が認可している特定保健用食品の保健用途（Health-claim）は、「高血圧予防」，「血糖値の上昇抑制」，「中性脂肪・体脂肪低下」，「コレステロール低下」，「整腸」，「骨の健康維持」，「ミネラルの吸収促進」及び「歯の健康維持」である。その中でも、「高血圧予防」食品の認可数は 100 品目を超えており、関与成分の大半は、サーディンペプチド Val-Tyr（VY）¹⁾ をはじめとする低分子ペプチドである。ペプチドによる血圧低下作用は、昇圧系であるレニン-アンジオテンシン-アルドステロン（RA）系において主体的に血圧上昇に関わるアンジオテンシン I 変換酵素（ACE）に対する阻害作用であるとされる。ACE の阻害によって昇圧ホルモン Angiotensin II（Ang II）の産生が抑制され、結果として Ang II による血管収縮の誘導が減弱することが期待される。他方、血圧低下ペプチドである VY 投与後の血圧低下作用と ACE 活性の間に相関が認められなかった²⁾ ことから、

低分子ペプチドによる血圧低下作用の発現は循環系 ACE 阻害作用のみでは説明することが困難である。血管などの循環系関連臓器では組織 RA 系が局在し、循環 RA 系とは独立して血圧調節機構を担っている³⁾ ことが明らかにされつつある。実際、ジペプチド VY のラットへの経口投与によって血管（及び腎臓）RA 系が持続的に抑制されること⁴⁾ を考慮すると、血圧決定臓器のひとつである血管組織に対してペプチドが何らかの機能調節を果たしている可能性がある。そこで本稿では、低分子ペプチドの新たな機能、特に血管組織に対する生理作用を中心に概説する。

1. ペプチドによる血管弛緩

持続的な高血圧状態により、血管の基本生理である収縮/弛緩運動が崩れ、血管伸縮性の低下及び血管細胞の肥大/異常増殖を引き起こし、血管の“やわらかさ”が損なわれる。このような血管力の低下により、血管・心臓・腎臓などの臓器に過負荷がかかり、血管系疾患（動脈硬化、心筋梗塞、腎不全など）が合併症として誘発される。血管トーンは、血管内皮による弛緩シグナルと血管平滑筋による収縮シグナ

ルの連携により調節されている。これまで、血管張力試験による弛緩活性を示すペプチドをスクリーニングし、VY, Trp-His (WH), His-Trp (HW), His-Arg-Trp (HRW) をはじめとして 30 種類以上の弛緩ペプチド⁵⁾ を明らかにしてきた。また、Arg-Ala-Asp-His-Pro (-Phe) (RADHP (F))^{6,7)}, Met-Tyr (MY)⁸⁾, カルノシン (β -Ala-His)⁹⁾ など弛緩ペプチドとして報告されている。RADHP (F) 及び MY は内皮の弛緩シグナル系を賦活化させる一方で、WH や VY 等は内皮非依存的な弛緩作用¹⁰⁾ を示す。内皮非依存的、すなわち平滑筋に直接作用する弛緩ペプチドについての報告例は僅かであり (カルノシン⁹⁾), 作用機構についても十分な解明には至っていない。平滑筋では、細胞内 Ca^{2+} の動員によって収縮系シグナルが賦活化する¹¹⁾。そこで、血管平滑筋細胞を用いてペプチド WH による細胞内 Ca^{2+} の濃度変化を検討したところ、電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャンネル (以後 Ca^{2+} チャンネルと表記) 刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 上昇を WH が明らかに抑制する¹²⁾ ことを確認した。このことから、WH の内皮非依存的弛緩メカニズムのひとつとして Ca^{2+} チャンネルへの結合による細胞外からの Ca^{2+} 流入の阻害が示唆される。また、弛緩ペプチドである HRW においても同様の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 低下作用が認められる¹³⁾ (表 1)。 Ca^{2+} チャンネルブロッカー (CCB) は降圧に関する標的治療薬のひとつであるが、低分子ペプチドが CCB 様の作用を担っているとの報告例はない。

Ca^{2+} チャンネルへの結合部位が異なる CCB 薬 (ジヒドロピリジン (DHP) 系: チャンネルタンパクの細胞外側に結合, フェニルアルキルアミン (PAA) 系: 同タンパクの細胞内側に結合) を用いた WH との競合試験結果によると、結合作用部位が異なる CCB (DHP/PAA) を併用すると、明らかに $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が低下する。併用による弛緩作用の消失は WH/PAA 系薬剤においても確認される (図 1)。結合部位の異なる薬剤の併用による CCB 作用の消失要因については、一方の CCB 薬による Ca^{2+} チャンネルタンパク質のアロステリック的な構造変化による他方の CCB 薬の結合低下である^{14,15)} と考察されている。従って、WH は DHP 系 CCB 薬と同様の部位、すなわち細胞外 Ca^{2+} チャンネルに結合している¹²⁾ と推察できる。また、WH は FBS 刺激した平滑筋細胞の増殖を濃度依存的に抑える¹²⁾ ことから、ペプチドの有する Ca^{2+} チャンネルブロック作用、血管伸縮性の調節作用、血管平滑筋細胞の増殖抑制作用によって、血管力の向上が期待される。高血圧や動脈硬化等の血管系疾患に対する予防作用が期待される食品成分を表 2 に示した。リンゴプロシアニジンや EGCG 等、内皮での弛緩系シグナル賦活作用を示す食品成分とペプチドの併用もまた相乗的な血管力の向上²⁴⁾ に資することが期待される。

表 1 ペプチドによる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 抑制作用

	濃度	$[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇抑制率 (vs. 50 μM Bay K8644 刺激平滑筋細胞)	参考文献
WH (Trp-His)	300 μM	23%	12)
Trp-His (アミノ酸混合物)	300 μM / アミノ酸	N.S.	12)
HRW (His-Arg-Trp) (参考: CCB 薬)	100 μM	29%	13)
Nifedipine	0.5 nM	57%	12)
Verapamil	10 nM	33%	12)

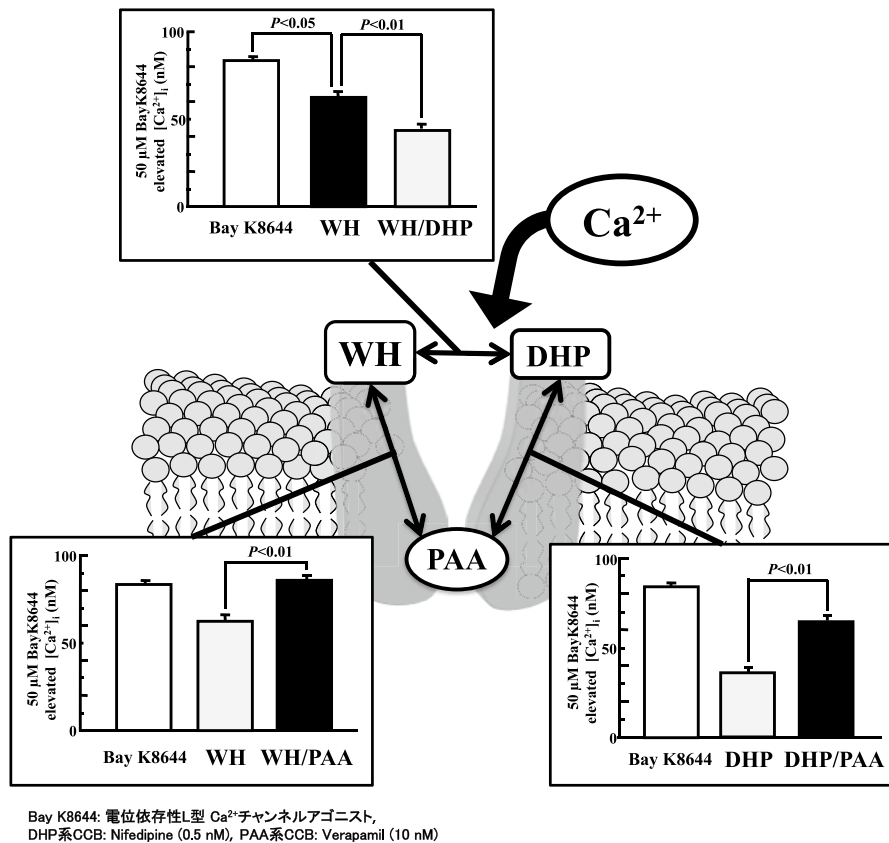


図1 Ca^{2+} チャンネル賦活化 (Bay K8644 刺激) した血管平滑筋細胞における WH (300 μM) の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 低下作用及び CCB 薬を用いた拮抗試験

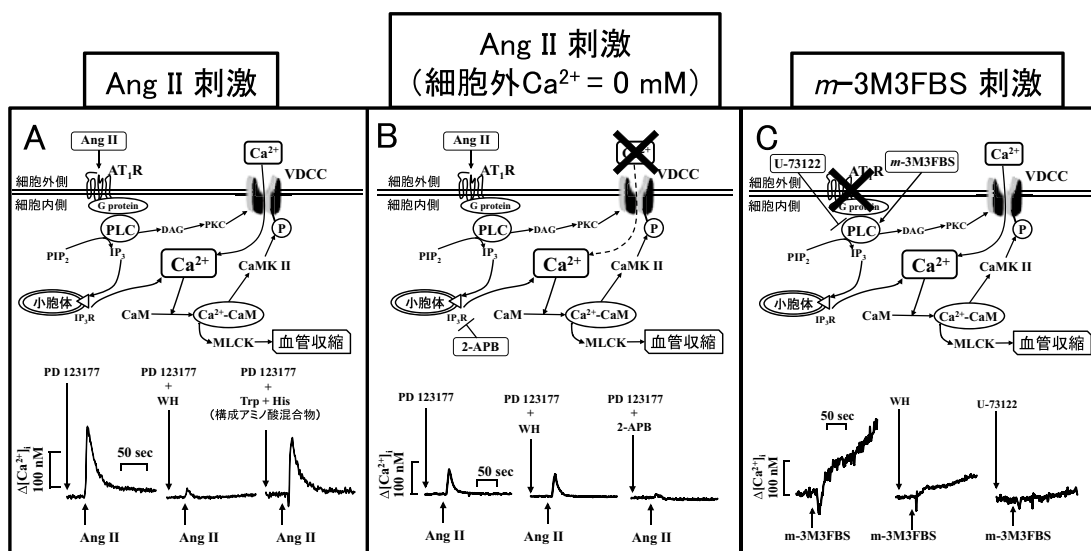
表2 血管力向上が期待される食品成分 (一例)

素材 / 関与成分	生理作用	作用メカニズム	参考文献
イワシタンパク加水分解物 /Val-Tyr	血圧低下 内皮依存性の血管弛緩 動脈硬化予防	ACE 阻害 Ca^{2+} チャンネルブロック (平滑筋)	16)
大豆タンパク加水分解物	(大動脈血管の病変形成抑制)	NO 産生系シグナル促進	17)
米タンパク加水分解物	〃	NO 産生系シグナル促進	17)
エイコサペンタエン酸	〃	接着因子の発現低下 (内皮) MMPs の発現低下 (マクロファージ)	18)
リンゴ未熟果抽出物 /リンゴプロシアニジン類	血圧低下 内皮依存性の血管弛緩	NO/cGMP 系賦活 (内皮)	19, 20)
糖転移ヘスベリジン	血圧低下血管肥大抑制	NADPH オキシダーゼの発現低下 (血管)	21)
レスベラトロール	血清コレステロール低下 動脈硬化予防 (大動脈血管の病変形成抑制)	HMG-CoA 還元酵素の活性抑制 (肝臓) 接着因子の発現低下 (血管)	22)
ECGC	内皮依存性の血管弛緩 インスリン抵抗性改善	NO 産生促進 (内皮) NADPH オキシダーゼの活性阻害	23)

2. ペプチドの血管弛緩メカニズム

前項で述べたように、WH による弛緩機構のひとつとして細胞外 Ca^{2+} チャンネルへの直接的な結合による Ca^{2+} 流入の阻害 (図 1) が示唆される。しかしながら、Ang II 受容体 (AT_1R) を介した収縮系シグナルの賦活による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇に対して、WH が顕著な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 抑制作用を示す (図 2A) ことから、細胞内収縮系シグナルに対しても WH が作用を及ぼしている可能性がある。なお、WH の構成アミノ酸 (Trp + His) では Ang II 誘導 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 阻害作用は確認されなかったことから、収縮系シグナルに対する生理作用はペプチド体として発現しているものと考えられる。そこで、弛緩ペプチド WH の収縮系シグナルに対する抑制機構を検討したところ、WH は Ang II 刺激による小胞体からの Ca^{2+} 放出を阻害しない (図 2B) ことが判明した。他方、 AT_1R 共役型ホスホリパーゼ C (PLC)

を直接刺激した場合 (*m*-3M3FBS 刺激), $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の顕著な低下が認められた (図 2C)。このことから、WH は PLC 系を介した収縮系シグナルに作用していることがわかる。PLC 関連収縮系シグナルでは, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と連動して PKC の活性化や Ca^{2+} -カルモジュリン (CaM) 複合体の形成が促進される。特に, Ca^{2+} - CaM 複合体は、血管平滑筋の収縮運動を制御するミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) の賦活化²⁵⁾ だけでなく, Ca^{2+} チャンネルの開口誘導 (リン酸化) を直接制御する CaM 依存性キナーゼ II (CaMK II) を賦活化することが知られている²⁶⁾。図 3 に示したように、平滑筋細胞において、WH は Ang II 刺激による CaMK II の賦活化を阻害し, Ca^{2+} チャンネルのリン酸化量を抑制することを初めて明らかにしている²⁷⁾。近年、平滑筋細胞における CCB の生理作用として、直接的な Ca^{2+} チャンネル阻害作用だけでなく、細胞内シグナル系を遮断することが報告されている。例えば、Nifedipine による平滑筋細胞



Trp + His: WH の構成アミノ酸, 2-APB: 小胞体の IP_3R アンタゴニスト, *m*-3M3FBS: PLC のアゴニスト, U-73122: PLC のアンタゴニスト

図 2 Ang II 受容体 (AT_1R) 活性化及び PLC 活性化平滑筋細胞における WH (300 μM) の細胞内 Ca^{2+} シグナル制御作用

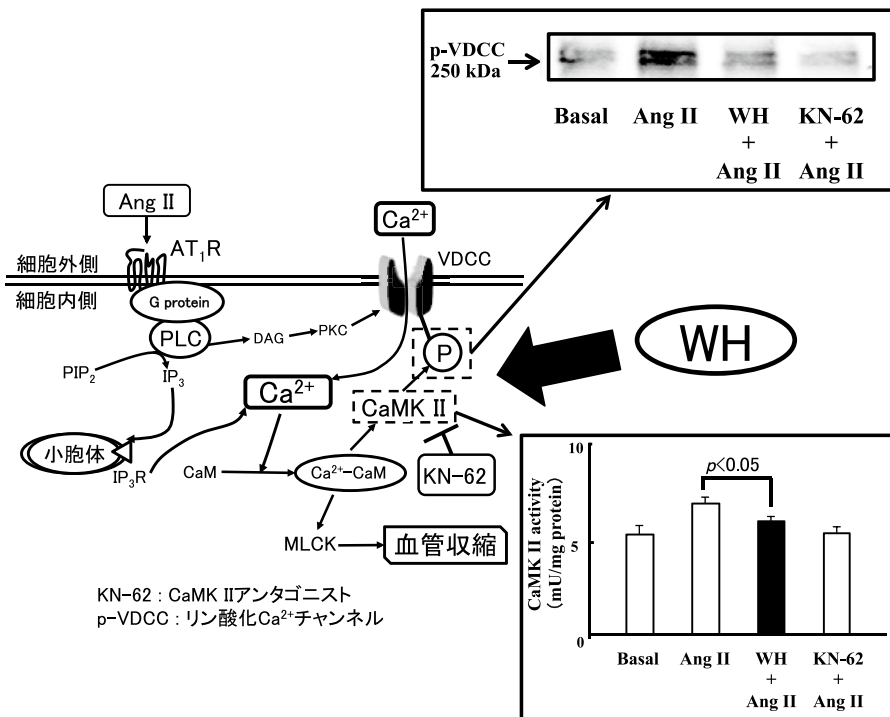


図3 平滑筋細胞における WH の細胞内 Ca^{2+} チャンネル制御作用

の増殖抑制作用が Ca^{2+} 非依存的な経路を介した AMP-activated protein kinase (AMPK) の賦活化によって起こること²⁸⁾, また CV-159 は CaM アンタゴニスト作用 / 抗炎症作用を有すること²⁹⁾ が報告されている。ペプチドによる CaMK II の阻害機構については、1) CaMK II 活性の直接的な阻害、2) 賦活化因子である Ca^{2+} -CaM 複合体形成の阻害が考えられる。前者については、CaMK II 活性部位の配列に基づき合成されたペプチド (Lys-Lys-Ala-Leu-Arg-Arg-Gln-Glu-Ala-Val-Asp-Ala-Leu)³⁰⁾, 後者については、 α -カゼイン由来のペプチド鎖 (16 から 25 残基)³¹⁾ または豆タンパクのアルカラーゼ加水分解物 (分子量 1000 Da 以下のペプチド混合物)³²⁾ がその作用を担っているとされているものの、構造-発現機構については不明である。

3. ペプチドによる血管力向上

動脈硬化症は血管性疾患のひとつであり、その発症・進展は 1) 高血圧や糖尿病などの発症に伴う血管内皮の機能不全並びに白血球の血管組織への浸潤、2) 脂質を過剰に取り込んだマクロファージ (泡沫細胞) の蓄積による脂肪線条の形成 (初期ステージ)、3) 病変巣近傍に遊走した平滑筋細胞の増殖によるプラーク拡大 (拡大ステージ)、4) プラークの破裂及び流出による血栓形成及び血管閉塞 (進展ステージ) 過程をたどる³³⁾。内皮非依存性血管弛緩ペプチドである WH を動脈硬化発症モデルである Apo E 欠損マウスに投与し、低分子ペプチドによる血管系弛緩予防作用を検証したところ (100 mg/kg/day, 9 週間), WH は上記過程により進行する動脈硬化病変形成を明らかに抑

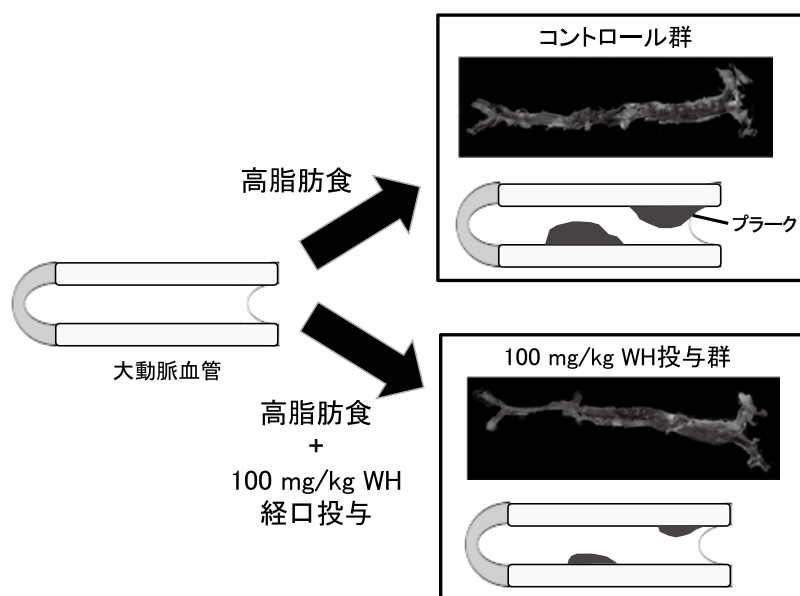


図4 ジペプチド WH の動脈硬化予防作用

制した³⁴⁾ (図4)。コレステロール代謝改善作用を有する Lys-Arg-Glu-Ser が大動脈病変形成を WH と同様に抑制する³⁵⁾ との報告があるものの、低分子ペプチドによる抗動脈硬化作用については WH が初めてである。なお、本試験において WH 投与による血清コレステロール量の変化は認められなかったことから、WH は Lys-Arg-Glu-Ser とは異なる生理作用で抗動脈硬化作用を示していることが示唆される。なお、WH と同様に CCB 薬剤である Amlodipine³⁶⁾ や Lacidipine³⁷⁾ においても Apo E 欠損マウスでの血清コレステロール量の変化を伴わない大動脈病変形成の抑制作用が報告されている。WH の生理作用 (Ca^{2+} チャンネルブロック作用、血管伸縮性の調節作用、平滑筋細胞の増殖抑制作用) を勘案すると、腸管吸収後の直接的な血管力の向上が期待される。

ジまたはトリペプチドはプロトン濃度勾配によるペプチドトランスポーター (PepT1)³⁸⁾ を介した担体輸送により吸収される。しかしなが

ら、ペプチド構造に対する PepT1 の認識性や吸収速度の違い、血中への移行過程など詳細は不明であり、ポリフェノール類等の食品成分の吸収に関する研究進捗と比較するとペプチド吸収に関する研究例は極めて少ない。遠因として、内在性ペプチドとの分別定量法の欠如が考えられよう。実際、血圧低下作用を示す VY は内因性物質として 0.1 ng/ml-plasma 程度存在する⁴⁾。さらに、安定同位体標識法の活用、スイッチング法、MS 法等による高選択的かつ高感度な分析法³⁹⁾ の構築もまたペプチド科学の深化的研究のためには重要な項目である。

おわりに

近年、ペプチドには糖尿病予防作用⁴⁰⁾、抗血栓作用⁴¹⁾、コレステロール低下作用⁴²⁾、免疫機能調節作用⁴³⁾ 等の様々な生理作用があることが報告されている。本稿での“血管力向上作用”がペプチド機能の新たな一面となることを願ってやまない。

. 参考文献

- 1) Kawasaki T., Seki E., Osajima M. *et al.*: Antihypertensive effect of Valyl-Tyrosine, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolyzate, on mild hypertensive subjects. *J. Hum. Hypertens.* **14**: 519-523, 2000.
- 2) Matsui T., Hayashi A., Tamaya K. *et al.*: Depressor effect induced by dipeptide, Val-Tyr, in hypertensive transgenic mice is due, in part, to the suppression of human circulating renin-angiotensin system. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* **30**: 262-265, 2003.
- 3) Okunishi H., Kawamoto T., Kurobe Y. *et al.*: Pathogenetic role of vascular angiotensin-converting enzyme in the spontaneously hypertensive rat. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* **18**: 649-659, 1991
- 4) Matsui T., Imamura M., Oka H. *et al.*: Tissue distribution of antihypertensive dipeptide, Val-Tyr, after its single oral administration to spontaneously hypertensive rats. *J. Peptide. Sci.* **10**: 535-545, 2004.
- 5) Matsui T., Wang Z., Tanaka M.: Vascular regulation by small peptide; *BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS Opportunities and Challenges in Medicinal Chemistry*. Brahmachari G., Singapore, World Scientific, 201-221, 2011.
- 6) Miguel M., Alvarez Y., Lopez-Fandino R. *et al.*: Vasodilator effects of peptides derived from egg white proteins. *Regul. Pept.* **140**: 131-135, 2007.
- 7) Matoba N., Usui H., Fujita H. *et al.*: A novel anti-hypertensive peptide derived from ovalbumin induces nitric oxide-mediated vasorelaxation in an isolated SHR mesenteric artery. *FEBS Lett.* **452**: 181-184, 1999.
- 8) Erdmann K., Grosser N., Schipporeit K. *et al.*: The ACE inhibitory dipeptide Met-Tyr diminishes free radical formation in human endothelial cells via induction of heme oxygenase-1 and ferritin. *J. Nutr.* **136**: 2148-2152, 2006.
- 9) Ririe D.G., Roberts P.R., Shouse M.N. *et al.*: Vasodilatory actions of the dietary peptide carnosine. *Nutrition* **16**: 168-172, 2000.
- 10) Matsui T., Tanaka M.: Antihypertensive peptides and their underlying mechanisms; *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals*. Yoshinori Mine, Eunice Li-Chan and Bo Jiang, USA, Wiley-Blackwell, 43-54, 2010.
- 11) Berridge M.J.: Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *J. Physiol.* **586**: 5047-5061, 2008
- 12) Wang Z., Watanabe S., Kobayashi Y. *et al.*: Trp-His, a vasorelaxant di-peptide, can inhibit extracellular Ca^{2+} entry to rat vascular smooth muscle cells through blockade of dihydropyridine-like L-type Ca^{2+} channels. *Peptides*. **31**: 2060-2066, 2010.
- 13) Tanaka M., Watanabe S., Wang Z. *et al.*: His-Arg-Trp potently attenuates contracted tension of thoracic aorta of Sprague-Dawley rats through the suppression of extracellular Ca^{2+} influx. *Peptides* **30**: 1502-1507, 2009.
- 14) Spedding M.: Functional interactions of calcium-antagonists in K^{+} -depolarized smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* **80**: 485-488, 1983.
- 15) Voigt W., Romanelli M.N., Lemoine H. *et al.*: Structural dependence of the allosteric interaction of semi-rigid verapamil analogues with dihydropyridine-binding in kitten heart. *Eur. J. Pharmacol.* **291**: 255-264, 1995.
- 16) 松井利郎: レニン-アンジオテンシン系と血圧低下ペプチド: これまでとこれから, *New Food Industry*, **47**: 11-18, 2005.
- 17) Ni W., Tsuda Y., Takashima S. *et al.*: Anti-atherogenic effect of soya and rice-protein isolate, compared with casein, in apolipoprotein E-deficient mice. *Br. J. Nutr.* **90**: 13-20, 2003.
- 18) Matsumoto M., Sata M., Fukuda D. *et al.*: Orally administered eicosapentaenoic acid reduces and stabilizes atherosclerotic lesions in ApoE-deficient mice. *Atherosclerosis* **197**: 524-533, 2008.
- 19) Byun E.B., Korematsu S., Ishikawa T. *et al.*: Apple procyanidins induce hyperpolarization of rat aorta endothelial cells via activation of K^{+} channels. *J. Nutr. Biochem.* **23**: 278-286, 2012.
- 20) Byun E.B., Ishikawa T., Suyama A. *et al.*: A procyanidin trimer, C1, promotes NO production in rat aortic endothelial cells via both hyperpolarization and PI3K/Akt pathways. *Eur. J. Pharm.* in accept.
- 21) Yamamoto M., Suzuki A., Jokura H. *et al.*: Glucosyl hesperidin prevents endothelial dysfunction and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* **24**: 470-476, 2008.
- 22) Do G.M., Kwon E.Y., Kim H.J. *et al.*: Long-term effects of resveratrol supplementation of atherogenic lesion formation and cholesterol synthesis in apo E-deficient mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **374**: 55-59, 2008.

- 23) Moore R.J., Jackson K.G., Minihane A.M.: Green tea (*Camellia sinensis*) catechins and vascular function. *Br. J. Nutr.* **102**: 1790-1802, 2009.
- 24) Tanaka M., Zhao J., Suyama A. *et al.*: Epigallocatechin gallate promotes the vasorelaxation power of the anti-atherosclerotic Trp-His in contracted rat aorta. *J. Agric. Food. Chem.* in accept.
- 25) Wynne B.M., Chiao C.W., Webb R.C.: Vascular smooth muscle cell signaling mechanisms for contraction to Angiotensin II and Endothelin-1. *J. Am. Soc. Hypertens.* **3**: 84-95, 2009.
- 26) Dzhura I., Wu Y., Colbran R.J. *et al.*: Calmodulin kinase determines calcium-dependent facilitation of L-type calcium channels. *Nat. Cell. Biol.* **2**: 173-177, 2000.
- 27) Kobayashi Y, Fukuda T., Tanaka M. *et al.*: The anti-atherosclerotic di-peptide, Trp-His, inhibits the phosphorylation of voltage-dependent L-type Ca^{2+} channels in rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Open Bio.* **2**: 83-88, 2012.
- 28) Sung J.Y., Choi H.C.: Nifedipine inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and reactive oxygen species production through AMP-activated protein kinase signaling pathway. *Vascul. Pharmacol.* **56**: 1-8, 2012.
- 29) Usui T., Yamawaki H., Kamibayashi M. *et al.*: Mechanisms underlying the anti-inflammatory effects of the Ca^{2+} /Calmodulin antagonist CV-159 in cultured vascular smooth muscle cells. *J. Pharmacol. Sci.* **113**: 214-223, 2010.
- 30) Ishida A., Shigeri Y., Tatsu Y. *et al.*: Critical amino acid residues of AIP, a highly specific inhibitory peptide of calmodulin-dependent protein kinase II. *FEBS. Lett.* **427**: 115-118, 1998.
- 31) Kizawa K.: Interactions of amphiphilic peptides derived from alpha s2-casein with calmodulin. *J. Dairy. Sci.* **79**(10): 1728-1733, 1996
- 32) Li H., Aluko. R.E.: Kinetics of the inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II by pea protein-derived peptides. *J. Nutr. Biochem.* **16**: 656-662, 2005.
- 33) Andres V.: Contorl of vascular cell proliferation and migration by cyclin-dependent kinase signaling: new perspectives and therapeutic potential. *Cardiovasc. Res.* **63**: 11-21, 2004
- 34) Matsui T., Sato M., Tanaka M. *et al.*: Vasodilating dipeptide Trp-His can prevent atherosclerosis in apo E-deficient mice. *Br. J. Nutr.* **103**: 309-313, 2010.
- 35) Navab M., Anantharamaish G.M., Reddy S.T. *et al.*: Oral small peptides render HDL antiinflammatory in mice and monkeys and reduce atherosclerosis in ApoE null mice. *Circ. Res.* **97**: 524-532, 2005.
- 36) Yoshii T., Iwai M., Li Z. *et al.*: Regression of atherosclerosis by amlodipine via anti-inflammatory and anti-oxidative stress action. *Hypertens. Res.* **29**: 457-466, 2006.
- 37) Kyselovic J., Martinka P., Batova Z. *et al.*: Calcium channel blocker inhibits western-type diet-evoked atherosclerosis development in ApoE-deficient mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **315**: 320-328, 2005.
- 38) Liang R., Fei Y.J., Prasad P.D. *et al.*: Human intestinal H^+ /peptide cotransporter. cloning, functional expression, and chromosomal localization. *J. Biol. Chem.* **270**:6456-6463, 1995.
- 39) Nakashima E.M.N., Kudo A., Iwaihara Y *et al.*: Application of ^{13}C stable isotope labeling liquid chromatography-multiple reaction monitoring-tandem mass spectrometry method for determining intact absorption of bioactive dipeptides in rats. *Anal Biochem.* **414**: 109-116, 2011.
- 40) Vernaleken A., Veyhl M., Gorboulev V. *et al.*: Tripeptides of RS1 (RSC1A1) inhibit a monosaccharide-dependent exocytotic pathway of Na^+ -D-glucose cotransporter SGLT1 with high affinity. *J. Biol. Chem.* **282**: 28501-28513, 2007.
- 41) Chabance B., Jolles P., Izquierdo C. *et al.*: Characterization of an antithrombotic peptide from kappa-casein in newborn plasma after milk ingestion. *Br. J. Nutr.* **73**: 583-590, 1997.
- 42) Nagaoka S., Futamura Y., Miwa K. *et al.*: Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk beta-lactoglobulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281**: 11-17, 2001.
- 43) Mine Y., Kovacs-Nolan J.: New insights in biologically active proteins and peptides derived from hen egg. *Worlds. Poult. Sci. J.* **62**: 87-96, 2006.

脂質分析と食品加工（その1）

Analysis of Lipids and Application to Food Processing (Part 1)

渡部 保夫*

* WATANABE Yasuo (愛媛大学農学部)

Key Words：脂質・高速液体クロマトグラフィー・蒸発光散乱検出器

Key Words：lipids・high pressure liquid chromatography・evaporative light scattering detector (ELSD)

はじめに

脂質は、細胞を構成する成分のうち、有機溶媒に溶解する物質の総称であり、トリアシルグリセロールなどの貯蔵脂質、細胞膜成分であるリン脂質や糖脂質、コレステロールなどが含まれる。トリアシルグリセロールは高度に還元された化合物であり、エネルギーの貯蔵形態として好ましいし、リン脂質・糖脂質やコレステロールは両親媒性を示し、構造内に疎水性（親油性）部分と親水性部分を持ち、水と油の境界面に局在してミセルや膜の形態で油を安定に分散させる。

私たちの体は、60 から 70% を水が占めていると言われており、水系で起こる各種代謝系や水溶性栄養素などが多く、それらの研究は実施しやすく、成果の蓄積も非常に多い。一方、非水系の物質（油）に関する研究は遅れている分野であり、新規な研究シーズが隠れているかもしれない。生体内で起こる化学反応を触媒する酵素の多くは水系で機能するので、酵素を利用

して脂質や油脂を非水系で加工するためには一工夫が必要であり、酵素自体の改変など検討しなければならないファクターが非常に多い。

筆者らは、多年にわたり酵母のリン脂質の分析やリン脂質分解酵素（ホスホリパーゼ）の精製研究を行ってきた。そこで、「脂質分析について」からはじめて、これまでの研究の経緯、脂質関連酵素が利用されている脂質（油脂）加工産業の現状と問題点などについて、2 回に分けて紹介したい。

1. 脂質分析について 1

脂質の抽出は、クロロホルム - メタノール系の溶媒を用いた Bligh-Dyer 法¹⁾、石油エーテル系の溶媒を用いた Folch 法²⁾ などにより行われる。前者のクロロホルム - メタノール系は抽出効率が良いので頻用されている。しかし、毒性の問題もあり、tert-ブチルメチルエーテル - メタノール系による抽出方法も提案されているよ

Corresponding author: 渡部保夫 (Yasuo Watanabe)

連絡先：〒 790-8566 愛媛県松山市樽味 3 丁目 5 番 7 号

愛媛大学農学部生物資源学科応用生命化学教育専門コース

E-mail：watanabe@agr.ehime-u.ac.jp

Tel/Fax：089-946-9849

うである³⁾。減圧下や窒素気流下で乾固させた後、クロロホルムなどに溶解して保存し、いろいろな方法でさらに分離精製される。

脂質を各成分に分離してその量を測定するなど、分析法は時代とともに新しい技術が開発されてきた。例えば、クロマトグラフィー (Chromatography) として次のようなものがある。なお、クロマトグラフィーとは、「各種の固体または液体を固定相とし、その一端に置いた試料混合物を適当な展開剤 (移動相) で移動させ、各成分の吸着性や分配係数の差異に基づく移動速度の差を利用してこれを相互分離する技術を総称する」と、理化学辞典に記載されている⁴⁾。液体クロマトグラフィー (Liquid Chromatography, LC) や分配クロマトグラフィー (Partition Chromatography, PC), 薄層クロマトグラフィー (Thin Layer Chromatography, TLC), ガスクロマトグラフィー (Gas

Chromatography, GC), イオン交換クロマトグラフィー (Ion Exchange Chromatography, IEC) などである。最後の IEC は脂質の分析にはあまり利用されないようである。また、近年では高速液体クロマトグラフィー (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) が一般化しつつあるが、脂質分析では主に、LC や PC の原理を利用している。

例えば、シリカゲルをガラスの管に充填したカラムに脂質をアプライした後、クロロホルム、アセトン、メタノールなどの脂質溶出用溶媒を用いて、脂質各成分を分離する LC では、それぞれ、中性脂質、糖脂質、リン脂質の順に溶出される。TLC では、シリカゲル薄層にスポットしたサンプルは、クロロホルム - メタノール溶媒の展開溶媒でリン脂質や糖脂質類を、ヘキサン系溶媒で中性脂質類を分けることができる。

例えば図 1 に、Bligh-Dyer の方法で抽出した

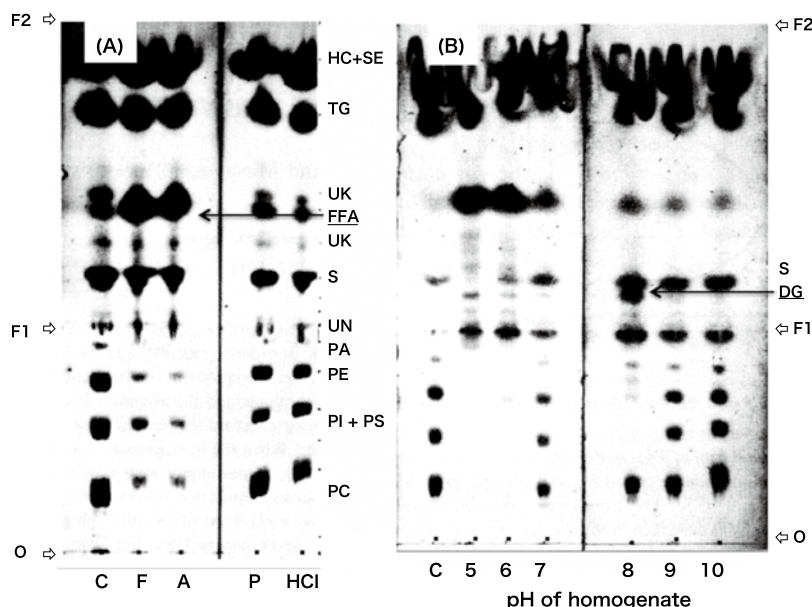


図 1 有機酸蒸気などで処理した酵母から抽出した脂質の薄層クロマトグラフ

(A) と pH を調節した酵母細胞破碎液のリン脂質分解活性 (B)

C : control, F : formic acid, A : acetic acid, P : propionic acid, O : origin, F1 : solvent front 1, F2 : solvent front 2, PC, phosphatidylcholine, PI, phosphatidylinositol, PS : phosphatidylserine, PE : phosphatidylethanolamine, PA : phosphatidic acid, UN : unknown components, S : sterol, FFA : free fatty acid, TG : triacylglycerol, HC : hydrocarbon, SE : sterol ester, DG : diacylglycerol.

酵母の全脂質を TLC で分析した結果を示した。O → F1 までクロロホルム - メタノール - 酢酸 - 水 (50:30:8:2, v/v) の溶媒で展開, その後乾燥した後, O → F2 まで n ヘキサン - ジエチルエーテル - 酢酸 (80:30:1, v/v) の溶媒で展開, 乾燥して十分に溶媒を除去した後, 50% 硫酸溶液をスプレー, 150℃で加熱して有機物を炭化することで脂質を検出した。オリジン (O) から溶媒フロント F1 までの範囲でリン脂質類が, 溶媒フロント F1 から F2 の範囲で中性脂質類が分離できた⁵⁾。

2. 酵母を有機酸処理するとリン脂質は分解される⁵⁾

すこし横道にそれるが, 図 1 の実験から, パン酵母のリン脂質分解酵素の存在を確認した研究について, 簡単に紹介したい。パン酵母の耐久性に関連した古い研究であるが, パン酵母を有機酸の蒸気にさらすと細胞はすぐに溶解する現象を発見した。酵母の全脂質を TLC により分析したところ, リン脂質種が分解され, 遊離脂肪酸 (FFA) が著増することが分かった⁵⁾。図 1 (A) に示したように, ギ酸, 酢酸の効果が強く, プロピオン酸や塩酸は無効であった。この変化を触媒する酵素として, ホスホリパーゼ B が想定された。ホスホリパーゼ B はリン脂質の 2 つの脂肪酸エステルを同時に分解する酵素であり, その活性は約 pH3 の酸性領域で最適を示した⁵⁾。当時は未精製の酵素であったが, 現在では *PLB1*, *PLB2*, *PLB3* と三つの遺伝子がコードすることも明らかにされている⁶⁾。ギ酸や酢酸の有機酸によりこの酵素が活性化することが示唆された⁵⁾。

酵母細胞を微細なガラスビーズと一緒に激しく振動して破碎した液の pH を酸やアルカリを用いて調節して保温すると, pH5 や 6 では先ほどのホスホリパーゼ B の作用を観察した (図 1

(B))。別に, pH8 では, ホスファチジルイノシトール (PI) + ホスファチジルセリン (PS) 区分とホスファチジルエタノールアミン (PE) のスポットが消失し, 新たにジアシルグリセロール (DG) が著増した (図 1 (B))。リン脂質類のうち, ホスファチジルコリン (PC) 以外のリン脂質類に対して, グリセロールとリン酸の間のエステル結合を加水分解するホスホリパーゼ C の作用によることが想定された。現在では酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では *PGC1* と名付けられたホスホリパーゼ C 遺伝子の存在が示されている⁷⁾。この酵素についてはなお不明な点が多く, 産業的にも利用されていないため, 今後検討が必要であろう。

3. 脂質分析について 2

各種脂質に含まれる脂肪酸は, GC を用いて分析される。トリグリセリドやリン脂質のような脂質は鹸化 (Saponified) され, 特に脂肪酸メチルエステルに変換した後, GC で分析する方法が簡便である。我々は, 硫酸酸性メタノール (無水メタノールを作製して濃硫酸を 2% 濃度になるように加えたもの) を用いて脂肪酸エステルをメタノリシスし (60℃で一晩加熱), 脂肪酸メチルエステルに変換していた⁸⁾。最近の研究では, 必要な酸性メタノールや塩基性メタノール溶液の調製法についても改良され, 比較的簡単に準備できるようである。詳細は論文を参照していただきたい³⁾。得られた脂肪酸メチルエステルは, 適当な樹脂を充填したカラムを装着した GC 装置に負荷される。脂肪酸の炭素数や二重結合の数に依存して, 分離される訳であるが, 後述する水素炎イオン検出器 (FID) を用いて検出されるので, 非常に高感度であり, 定量性も高い。

4. 多成分脂質一斉分析法 (TLC-FID 法)

脂質は上述した通り構造や性質の異なるいろいろな脂質成分の混合物であるので、各成分を一斉に分離定量できる技術は大変有効である。我々は、30年以上前に、FIDとTLCを組み合わせた「イアトロスキャン」(Iatroscan, 三菱化学メディエンス(現在の取扱会社))という装置を導入した。FIDとは、GCの検出器として頻用されるが、「キャリアーガス中の有機化合物を水素炎のエネルギーでイオン化し、そのイオン電流を測定する」とある⁹⁾。この装置は、FIDで有機物を余すことなく検出できるため、非常に簡便な感度のよい分析法を採用して

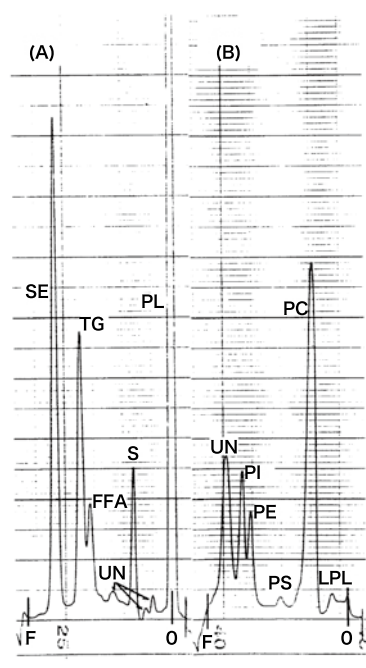


図2 イアトロスキャンを用いた中性脂質種 (A) とリン脂質種 (B) の分析パターン

F : front, SE : sterol ester, TG : triacylglycerol, FFA : free fatty acid, UN : unknown components, S : sterol, PL : phospholipid, PI : phosphatidylinositol, PE : phosphatidylethanolamine, PS : phosphatidylserine, PC : phosphatidylcholine, LPL : lysophospholipid.

いる。実際には、約1mm幅の石英棒にシリカゲルをコートしたロッドと呼ばれるシリカゲル棒の末端に、脂質サンプルの数マイクロリットルをマイクロシリンジでスポットし、そこが浸らないようにしてシリカゲル棒を展開溶媒に浸してTLCを行う。展開溶媒を乾燥除去した後、シリカゲル棒を装置にセットし、FIDの水素炎に自動的に通過させることで分離された有機物を検出した。例えば、図2に、中性脂質類(A)とリン脂質類(B)を別々に分離し、FIDにより測定した結果を示している¹⁰⁾。なおそれぞれの展開溶媒はAではnヘキサン-ジエチルエーテル-ギ酸(90:10:1, v/v)、Bではクロロホルム-メタノール-水(50:60:4.5, v/v)であった。検出法はFIDであるので感度がよく、さらに分析後のシリカゲル棒は有機物が除去され、再活性化されているので、相当回数再使用できることも利点であったが、長さわずか10cmのシリカゲル棒を用いたTLCであるので多成分の分析には適していなかった。また最大の問題点は脂質サンプルをシリカゲル棒にスポットするときのスポンティングエラーが大きいことであった。

ただ、限定したリン脂質を基質とし、例えばリン脂質分解酵素(ホスホリパーゼAやB)で加水分解して生成する遊離脂肪酸量を測定する場合、脂質成分数(ホスファチジルコリン(PC)と遊離脂肪酸(FFA))が少ないので、シリカゲル棒の半分まで(B)の展開溶媒を用いて展開し、充分乾燥した後、再度、(A)の展開溶媒を用いてシリカゲル棒の上端(計測可能範囲)まで展開して、棒の下半分にリン脂質(PC)、上半分に遊離脂肪酸(FFA)が分離されて定量できるので、酵素活性の測定実験には充分活用できた¹¹⁾。

5. HPLC を用いた脂質分析について

HPLC 装置が多くの研究室に導入され、利用しやすくなってきた。カラムを通過して分離された各成分は、いろいろな検出器を用いて計測されるが、全ての脂質種を網羅的に定量するためには、これまで検出器に問題があった。205 nm などの UV により光学的に化合物に含まれる二重結合に由来するシグナルを検出する方法や、化合物と溶離液との間に屈折率の差があれば計測できる示差屈折率検出器 (Refractive Index Detector, RID) を用いて測定する方法が、一般的であった。しかしながら、グラジエント溶出ができないことや検出感度において問題があった。

最近、筆者らの研究室では、蒸発光散乱法 (Evaporative Light Scattering Detector, ELSD) を装着した HPLC システムを導入した。島津(株)の HPLC Application Report No.28¹²⁾ によれば、脂質分析関係ではトリグリセリドの脂肪酸組成の違いによる分離、高級脂肪酸の種類分離、糖脂質 (セレブロシド) とリン脂質 (ホスファチジルエタノールアミン) の分離などについて実施例が示されていたので、本システムを脂質の分離分析に利用することにした。

6. ELSD について

ELSD の検出原理は次の通りである (図3)¹³⁾。カラム溶出液を噴霧・加熱することにより揮発性溶離液を蒸発除去し、残存した不揮発性物質の微粒子に光を照射することによって生じる散乱光を測定する。ELSD は分光学的な検出器でないため、ラインベルト・パールの法則には従わないと言われ、検出される散乱光強度と粒子数の関係は、

$$(\text{検出される散乱光強度}) = k (\text{粒子数})$$

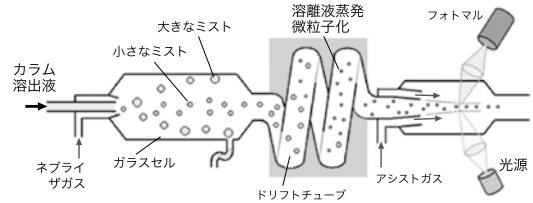


図3 蒸発光散乱検出 (ELSD-LTII) の原理

で表され、検出される散乱光強度は検出部を通過する粒子数のべき乗関数として表される。従って、注入した物質質量に対する検出器の応答は一次関数ではなく、指数関数での応答になる。上記式の両辺の対数をとると、

$$\log (\text{検出される散乱光強度}) = b \log (\text{粒子数}) + \log k$$

となり、「検出される散乱光強度の対数」と「粒子数の対数」は一次関数になると言われている¹²⁾。

これまでに分析された脂質の例を示すので、詳細は参考論文を参照していただきたい。リン脂質類^{14, 15)}と、リン脂質+中性脂質類^{16, 17)}、油脂^{18, 19)}、脂肪酸類²⁰⁻²²⁾などが検索された。それ以外の化学物質については、総説を参照していただきたい²³⁾。

7. リン脂質類の分析条件について

参考のために我々が使用している装置 (島津(株)製高速液体クロマトグラ Prominence) の構成を次ぎに示した。システムコントローラ (CBM-20A), 送液ユニット (LC-20AD (2台)), オートサンプラ (SIL-20AC), オンライン脱気ユニット (DGU-20A3), カラムオープン (CTO-20A), 窒素ジェネレーター, ELS 検出器 (ELSD-LTII) から構成されている。

上記の先行論文のうち, Sas ら¹⁴⁾ の条件を参考に、次のように分析条件を設定した。カラム: YMC 社 製 YMC-Pack Diol-120-NP, 移動相: (A) アセトン / 酢酸 / トリエチルアミン / ヘキサン (1000/7.5/5/75, v/v), (B) メタノー

ル / 酢酸 / トリエチルアミン (1000/7.5/5, v/v), 2 ポンプグラジエント溶出 (分): 0-16.5: B=0%; 16.5-28: B=15%; 28-32: B=50%; 32-35: 50%; 35-46: B=0%; 46: STOP, 流速: 1.0 mL/min, カラム温度: 35℃, 検出器温度: 40℃, N₂ ガス圧: 350kPa の条件で行った。

100 mg/L の濃度でクロロホルム - メタノールに溶解した, ホスファチジン酸 (PA), ホスファチジルエタノールアミン (PE), ホスファチジリノシトール (PI), リゾホスファチジルエタノールアミン (LPE), ホスファチジルセリン (PS), ホスファチジルコリン (PC), リゾホスファチジルコリン (LPC) (溶出の順番) を上記の条件で ELSD-HPLC により分離した結果を図 4 に示した。それぞれきれいに分離され

ており, 定量測定に十分に利用できることが分かる。

同条件で, 中性脂質類 (遊離脂肪酸 (FFA) とジアシルグリセロール (DG)), リン脂質類 (ホスファチジン酸 (PA), PC, LPC) を分析した結果を図 5 に示した。これまでの我々の経験ではリン脂質類に比べて FFA や DG の ELSD 感度 (mV) は高かった。

なお, 文献²³⁾によれば, ELSD は, 分析したい化合物が不揮発性であれば検出可能であり, 同一の分析条件下 (ここでは移動相の組成が一定である場合) では脂質の種類による感度の差は小さいと言われている。しかし, 移動相の組成が変化するグラジエント溶出の場合は, 移動相の表面張力や密度, 粘度などが変化する

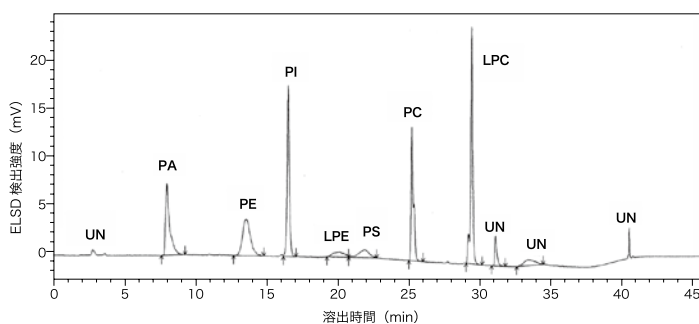


図 4 ELSD-HPLC による各種リン脂質の分離

PA : phosphatidic acid, PE : phosphatidylethanolamine, PI : phosphatidylinositol, LPE : lysophosphatidylethanolamine, PS : phosphatidylserine, PC : phosphatidylcholine, LPC : lysophosphatidylcholine, UN : unknown components.

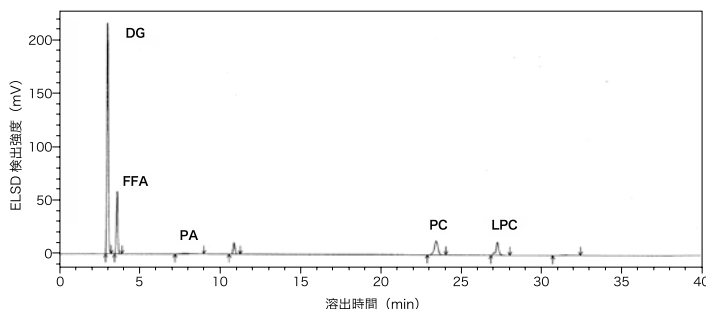


図 5 ELSD-HPLC による中性脂質とリン脂質の分離

DG : diacylglycerol, FFA : free fatty acid, PA : phosphatidic acid, PC : phosphatidylcholine, LPC : lysophosphatidylcholine.

ために、分析の途中で検出感度が変動すると指摘している。一方で、ELSD の検出の特徴として、検出時には移動相の溶媒は蒸発しているため、移動相条件の違いは検出自体には影響しないため、グラジエント溶出法を適応することができるわけである。

同様に UV を吸収しない物質についても検出できる RID は、分析したい化合物を含まない移動相が通過するセルと、分析サンプルを含む移動相が通過するセルとの間で生じる光学的な屈折率の差に基づいて物質を検出して計測する。従って、UV 吸収を持たない糖などの分析などに頻用されているが、感度が低く、グラジエント溶出の条件では使用できない。ELSD は、RID と比べると格段に汎用性が高く多成分の一斉分析に有効である。

8. 各種脂質含量測定のための検量線作成

上述した通り、移動相の組成の違いから、中性脂質類やリン脂質類のそれぞれについて ELSD 感度は異なるので、それぞれの種類の脂質を定量する場合は、それぞれの物質について個別に検量線を作成する必要がある。例えば、PC と FFA について、HPLC で分画後、ELSD で検出したチャートから計算された面積とそれぞれの標準物質質量（濃度 $\mu\text{g/mL}$ ）の関係を図 6 (A, C) に示した。上述した理由により、それぞれのプロットは指数近似曲線が描ける。ELSD 感度（ピーク面積）の対数とサンプル物質質量の対数をプロットすると、一次関数的な検量線を作成できた（図 6 (B, D)）。

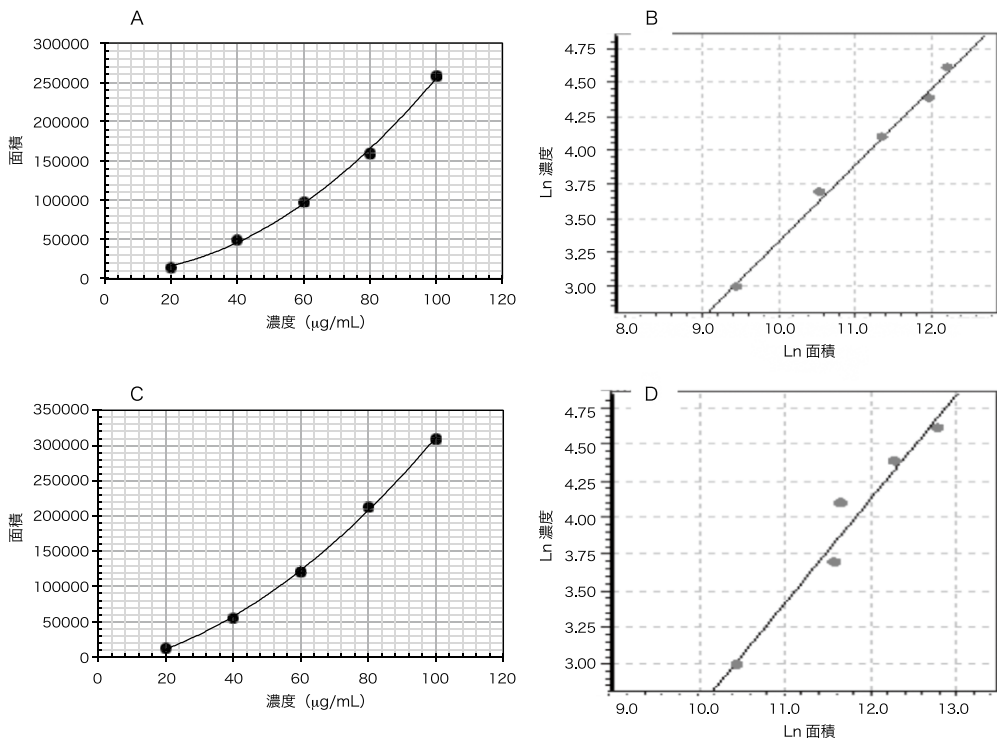


図 6 ELSD を用いた脂質の検量線

A, C : 面積 vs 濃度 B, D : log 面積 vs log 濃度
A, B : phosphatidylcholine (PC) C, D : free fatty acid (FFA)

まとめ

以上、脂質分析技術は日々進歩を続けており、相当程度の経費を計上できれば簡便な脂質分析を容易に行えるようになってきた。

サンプル調製においても通常の水溶性サンプルとは異なるいくつかの注意事項もある。例えば、高度に不飽和な脂肪酸を対象とする実験では、溶媒で脂質を抽出した後、溶媒を除去することが行われるが、不飽和結合の酸化を防ぐために、窒素気流中で溶媒を除去する方法や、通常溶媒除去に使われるロータリーエバポレーターで溶媒を除去した後常圧に戻す場合に窒素やヘリウムガスを注入するなどの方法が行われる。また、光や高温によっても酸化は促進されるので注意が必要である。それゆえ、高度に不飽和な脂質を抽出する場合（それ以外でも）、

過酸化を防ぐために室温付近で操作を行う必要があり、ソックスレー抽出器を用いて長時間抽出する方法はさけた方がよい。

脂質抽出液の保存においても、同様に、過酸化や加水分解を受ける危険を回避するために、脂質を数週間程度保存したい場合は、新しいクロロホルム-メタノール（2:1, v/v）に溶解し、容器一杯に満たして（あるいは気相を窒素ガス置換して）0℃から-20℃で保存するのがよい。数年と長期間保存したい場合は、トコフェロール（BHT）のような抗酸化剤を0.05%程度加えて、-80℃程度の超低温で保存する必要がある。

今回は、これらの脂質分析技術を用いて、我々が行った研究の一端をご紹介します。

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

- 1) Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917, 1959.
- 2) Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509, 1957.
- 3) 市原謙一：脂肪酸分析は意外と簡単，*生物工学*，**90**, 89-92, 2012.
- 4) 玉虫文一ら：岩波理化学辞典第3版，岩波書店，p.377, 1975.
- 5) Watanabe, Y., Abe, N., and Takakuwa, M.: Degradation of phospholipids and liquefaction of pressed baker's yeast by acetic acid vapour. *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 195-201, 1983.
- 6) Saccharomyces Genome Database : <http://www.yeastgenome.org/>
- 7) Simockova, M., Holic, R., Tahotna, D., Patton-Vogt, J., and Griac, P.: Yeast Pgc1p (*YPL206c*) controls the amount of phosphatidylglycerol via a phospholipase C-type degradation mechanism. *J. Biol. Chem.*, **283**, 17107-17115, 2008.
- 8) Takakuwa, M. and Watanabe, Y.: Degradation of cellular phospholipids and softening of pressed baker's yeast. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2167-2173, 1981.
- 9) 今堀和友ら：生化学辞典第2版，東京化学同人，p. 679, 1990.
- 10) Watanabe, Y. and Takakuwa, M.: Effect of sodium chloride on lipid composition of *Saccharomyces rouxii*. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2415-2422, 1984.
- 11) Kuwabara, Y., Maruyama, M., Watanabe, Y., Tanaka, S., Takakuwa, M., and Tamai, Y.: Purification and some properties of membrane-bound phospholipase B from *Torulaspora delbrueckii*. *J. Biochem.*, **104**, 2236-241, 1988.
- 12) HPLC application report No. 28, Prominence 蒸発光散乱検出システムの原理と応用：島津(株)，2009.
- 13) <http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/prominence/elsd.htm>.
- 14) Sas, B., Peya, E., and Helsen, M.: Efficient method for (lyso)phospholipid class separation by high-performance liquid chromatography using an evaporative light-scattering detector. *J Chromatogr. A*, **864**, 179-182, 1999.
- 15) Wenshan.Z.: HPLC-ELSD determination of phosphatidylcholine in phospholipid cholesterol complex lipids. *Yaowu Fenxi Zazhi* **27**, 700-702, 2007.
- 16) Seppanen-Laakso, T., Laakso, I., Vanhanen, H., Kiviranta, K., Lehtimäki, T., and Hiltunen, R.: Major human plasma lipid classes determined by quantitative high-performance liquid chromatography, their variation and

- associations with phospholipid fatty acids. *J.Chromatogr. B*, **754**, 437-445, 2001.
- 17) Becart, I., Chevalier, C., and Biesse, J.P.: Quantitative analysis of phospholipids by HPLC with a light scattering evaporating detector – application to raw materials for cosmetic use. *J. High Res. Chromatog.* **13**, 126-129, 1990.
 - 18) Letter, W.S.: A quantitative method for triglyceride analysis by HPLC using an evaporative light-scattering detector. *J. Liquid Chromatog.* **16**, 225-239, 1993.
 - 19) Moh, M.H., Tang, T.S., and Tan, G.H.: Stilutaneous determination of free fatty acids, partial acylglycerols and tocolds in palm oil products using high-performance liquid chromatography. *J. Food Lipids*, **8**, 179-190, 2001.
 - 20) Bravi, E., Perretti, G., and Montanari, L.: Fatty acids by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detector. *J. Chromatog. A*, **1134**, 210-214, 2006.
 - 21) Guo, H., Hu, C., Qian, J., and Wu, D.: Determination of underivatized long chain fatty acids using HPLC with an evaporative light-scattering detector. *J. American Oil Chem Soc.*, **89**, 183-187, 2012.
 - 22) Zhao, J., Li, S.P., Yang, F.Q., Li, P., and Wang, Y.T.: Simultaneous determination of saponins and fatty acids in *Ziziphus jujube* (Suanzaoren) by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection and pressurized liqid extraction. *J. Chromatog. A*, **1108**, 188-194, 2006.
 - 23) 寺田英敏, 早川禎宏, 三上博久: 蒸発光散乱検出器の有効的な使い方. *Chromatography*, **32**, 141-152, 2011.

アマゴ用飼料 -1.

成長段階別至適カロリー / タンパク質比 (CP 比)

酒本 秀一

SAKAMOTO Shuichi

Key Words: アマゴ・魚油添加・カロリー・CP比・成長・飼料効率・タンパク質効率・飼料成分の魚体蓄積率

アマゴはサツキマス（降海型）の河川残留型で、サツキマスはサケ目サケ科のサクラマスの亜種とされている。神奈川県西部がアマゴの分布の東限と云われており、西日本の山間部で水温の低い綺麗な水に住むサケの仲間である。場所によってアメノウオ、アメゴ、ヒラメ、エノハ他色々な名前と呼ばれる。また、銀毛化したアマゴをシラメと呼ぶ地方もある。最近は移植・放流によって本来の分布域とは違う場所での生息も確認されている。

体型は小型であるがサケに似ており、体側の側線の上下から背部にかけて朱赤点が散在する綺麗な魚である。溪流釣りの対象魚として人気が高く、しかも美味であるので放流用や食用に養殖も行われている。

アマゴの栄養要求はあまり詳しく調べられていない。魚の成長や飼料効率は、飼料のタンパク質や脂質の量によって規定される部分が多いことや、栄養成分の要求量は魚の成長段階によって変化することが良く知られている。よって、本試験では魚油の添加量を外割0, 3, 6, 9および12%とした5試験飼料を用いてアマゴの成長段階別に飼育試験を行い、飼料の至適魚油添加量、カロリー量、CP比等を調べることにした。

試験 -1. 稚魚

1. 材料と方法

供試魚はアマゴ種苗生産業者より購入した受精卵から孵化させ飼育した平均体重0.5gの稚魚で、各区100尾を用いた。アマゴは野性味が強く、神経質なので小型の透明水槽での飼育は難しい。よって、50L容透明プラスチック水槽の側面を黒色ビニールで覆い、上面は目の細かいネットを被せた。マス稚魚用飼料（ハードペレットのクランブル）を基本飼料とし、それに魚油（フィードオイル）を外割で0, 3, 6, 9および12%添加した5試験飼料区を設定した。魚油の添加量は全ての試験で一緒なので、以下の試験では記述しない。

試験飼料の分析値を表1に示す。分析は飼料

表1 試験飼料の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
水分 (%)	8.8	8.0	8.3	7.9	7.5
タンパク質	47.6	46.2	44.9	43.8	42.6
脂質	7.2	9.7	12.3	14.5	16.8
炭水化物	23.2	22.4	21.2	20.7	20.3
灰分	12.0	11.6	11.2	10.9	10.7
Cal/100g	302	317	333	347	362
CP比	6.34	6.86	7.42	7.92	8.50

分析法に従った。飼料のカロリーは、タンパク質 4、脂質 9、炭水化物 2 Cal/g として計算で求めた。給餌は日に 2 回（午前 1 回、午後 1 回）で、給餌率は改変ライトリッツ給餌率とした。水温は 14℃で、飼育期間は 3 月 2 日から 4 月 22 日迄である。飼育試験開始時と終了時の尾数から生残率、開始時と終了時の総体重の差に死魚の補正を加えて増重量、増重量と給餌量から飼料効率（増重量×100/給餌量）、増重量と給与飼料中のタンパク質量からタンパク質効率（増重量×100/給与タンパク質量）を求めた。また、開始時と終了時の魚体成分量の差と給与飼料中の成分量から飼料成分の魚体蓄積率を求めた。更に飼育試験終了時に各区から 10 尾ずつサンプリングし、尾柄部を切断して採血し、血清成分の分析を行った。

2. 結果

飼育結果を表 2 と図 1 に示す。生残率に区間差は認められない。増重量（魚の成長）、飼料効率、タンパク質効率は魚油の添加量、カロリー、CP 比が高い区ほど優れていた。12% 以上の添加量は検討していないが、更に良い結果を示す可能性が有る。飼料成分の魚体蓄積率を表 3 に示す。魚油添加量が多くなるに従ってタンパク質、灰分、カロリーの蓄積率が高くなる傾向が認められる。タンパク質とカロリーの蓄積率増加は脂質によるタンパク質の節約効果によるものであり、灰分は魚の成長による化骨の程度の違いによるのであろう。脂質には一定の傾向は認められなかった。

飼育試験終了時の魚体成分では、タンパク質と灰分に明確な区間差は無く、水分と脂質に違

表 2 飼育試験の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
生残率 (%)	87	86	89	88	91
増重量 (g)	161.2	162.5	166.9	168.8	170.6
給餌量 (g)	119.9	119.9	119.9	119.9	119.9
飼料効率 (%)	134.4	135.5	139.2	140.8	142.3
タンパク質効率 (%)	282.4	293.3	310.0	321.5	334.0

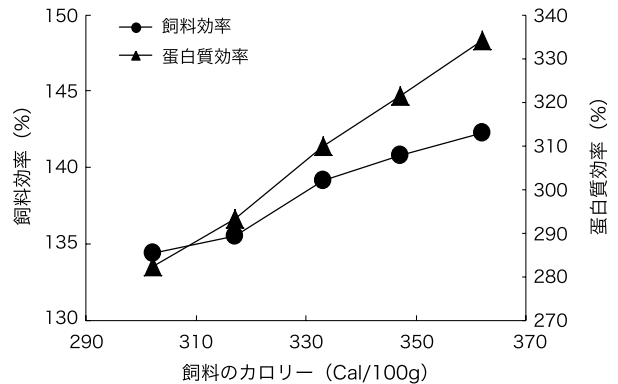


図 1 飼料 Cal と飼料効率、タンパク質効率の関係

表 3 飼料成分の魚体蓄積率

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
タンパク質 (%)	41.8	44.7	45.8	47.0	47.8
脂質	59.0	48.5	51.5	53.3	52.6
灰分	26.5	27.1	27.7	30.1	29.4
Cal	39.0	39.5	41.9	43.8	44.5

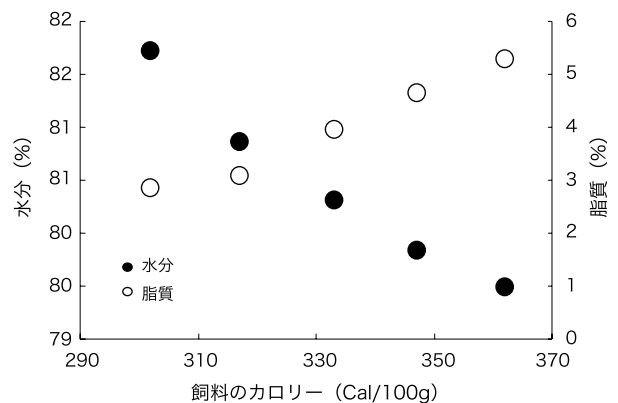


図 2 飼料 Cal と魚体の水分、脂質含量の関係

いが認められた。飼料のカロリーと全魚体の水分、脂質含量との関係を図 2 に、水分と脂質の関係を図 3 に示す。飼料の魚油添加量が増えてカロリーが高くなるに従って水分が減り、脂質が増えている。水分と脂質の間には非常に

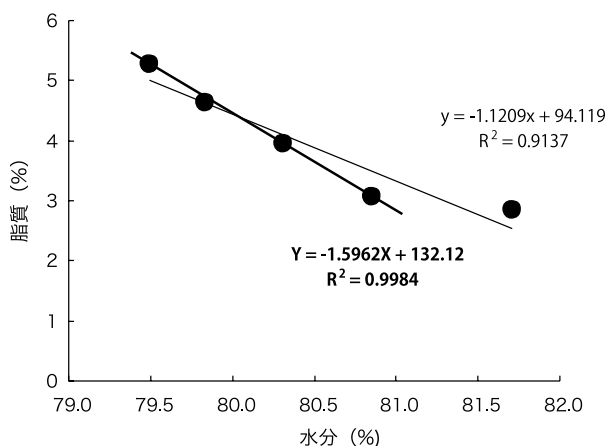


図3 魚体の水分と脂質の関係

表4 血清成分の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
Glu (mg/dl)	71	77	68	71	75
T-Cho (mg/dl)	313	364	456	400	388
T-Pro (g/dl)	3.8	3.3	3.8	3.5	3.6
TG (mg/dl)	496	600	906	840	494
ALP (IU/L)	<50	61	72	67	53

強い負の相関が認められる。但し、水分含量が81%以上になると脂質は略一定の値を示すようである。

血清成分の分析値を表4に示す。グルコース (Glu), 総コレステロール (T-Cho), 総タンパク質 (T-Pro), トリグリセライド (TG), アルカリ性フォスファターゼ (ALP) などは魚の健康状態を示す指標として一般的に用いられる。飼育成績とは違い、血清成分を指標とすると、魚油添加量6%, 333Cal/100g, CP比7.42の飼料が最も良い結果を示している。飼育成績と魚の状態は多少異なるのかも知れない。

3. 要約

・飼料への魚油添加量が多くなるに従って成長, 飼料効率, タンパク質効率が改善される。

・成長, 飼料効率, タンパク質効率お

よび飼料成分の魚体蓄積率などを指標にすると, 0.5gの稚魚には魚油添加量12%, 362Cal/100g, CP比8.50の飼料が最も良い。12%以上の添加量は調べていないので, 今後検討すべきである。更に良い結果が得られる可能性がある。

・血清成分を指標にすると, 魚油添加量6%, 333Cal/100g, CP比7.42の飼料が最も良い。飼育成績と魚の状態は多少異なる可能性がある。

・飼料への魚油添加量が増えるに従って全魚体の水分含量が減少し, 脂質含量が増加する。

・全魚体の水分含量と脂質含量の間には負の相関が有り, $Y = -1.5962X + 132.12$ (Y: 脂質, X: 水分), $R^2 = 0.9984$ の関係式が成り立つ。但し, 水分が81%以上になると脂質の量は略一定値を示す。

試験-2. 幼魚

1. 材料と方法

供試魚は試験-1と同一ロットで, 平均体重8gの幼魚を各区12尾用いた。試験飼料は市販のマス育成用No.3 (ハードペレット) を基本飼料とした。試験飼料の分析値を表5に示す。飼育期間は6月14日から8月30日迄である。その他の飼育条件と調査項目は試験-1と同様である。但し, 採血はヘパリン処理した1mL

表5 試験飼料の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
水分 (%)	8.0	7.7	7.3	7.2	6.8
タンパク質	46.6	45.4	44.2	42.9	41.7
脂質	7.5	10.2	12.5	15.1	17.1
炭水化物	20.7	20.4	19.2	19.0	17.9
灰分	10.8	10.5	10.2	9.9	9.7
Cal/100g	295	314	327	345	357
CP比	6.33	6.92	7.40	8.04	8.56

プラスチック注射筒を用いてキュービ
エ氏管から行った。

2. 結果

飼育結果を表6と図4に示す。生
残率は83.3%から100%と数字だけ

見ると大きな差が有るように見えるが、
これは供試尾数が12尾/区と少なかった
為で、たまたま1尾死亡しただけでも影
響が非常に大きい。死魚数は各区とも0-2
尾で、しかも死魚数と魚油添加量との間
に一定の傾向が認められないことから、
飼料成分と生残率には関係が無いものと
考える。増重量、飼料効率、タンパク質
効率は魚油の添加量が多くなるに従って
高くなり、9%添加区で最も高い値を示し、
12%になるとやや減少した。これらの飼
育成績を指標にすると、魚油添加量9%、
345Cal/100g, CP比8.04の飼料が最も良い。

飼料成分の魚体蓄積率を表7に示す。
タンパク質、灰分、カロリーの蓄積率は
飼育成績と同様に魚油の添加量が多くな
るに従って高くなり、9%で最高になり、
12%ではやや減少した。脂質の蓄積率は
魚油の添加量が多くなるに従って逆に低
くなる傾向が認められた。この結果は稚
魚の試験結果とは可也異なっており、幼
魚では稚魚より脂質の要求量が低いもの
と推測出来る。

飼育試験終了時の全魚体成分では、灰
分は区間差が無く、タンパク質は極僅か
の違い、水分と脂質は大きな違いが認め
られた。飼料のカロリーと全魚体の水分、脂質
含量との関係を図5に、水分と脂質の関係を
図6に示す。飼料への魚油添加量が増えてカロ
リーが高くなるに従って水分が減り、脂質が増
えているのは稚魚と同じであるが、幼魚の場合
は魚油添加量が9%、345Cal/100g以上になると

表6 飼育試験の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
生残率 (%)	83.3	100	83.3	91.7	91.7
増重量 (g)	121.6	135.6	137.4	149.5	136.7
給餌量 (g)	182.0	182.0	182.0	182.0	182.0
飼料効率 (%)	66.8	74.5	75.5	82.1	75.1
タンパク質効率 (%)	143.5	164.1	170.9	191.6	180.0

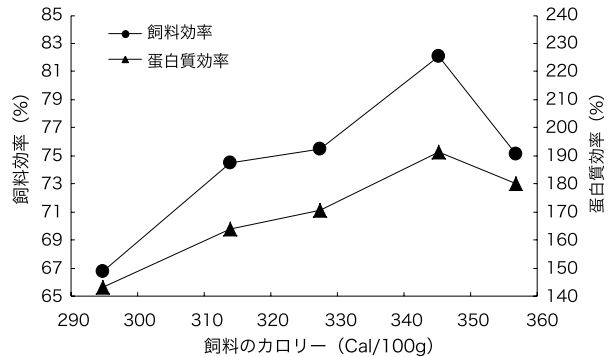


図4 飼料 Cal と飼料効率、タンパク質効率の関係

表7 飼料成分の魚体蓄積率

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
タンパク質 (%)	24.6	27.3	28.0	31.4	28.9
脂質	64.8	62.0	59.1	63.7	53.4
灰分	13.0	14.1	16.2	19.9	14.7
Cal	30.3	33.9	35.4	40.6	36.6

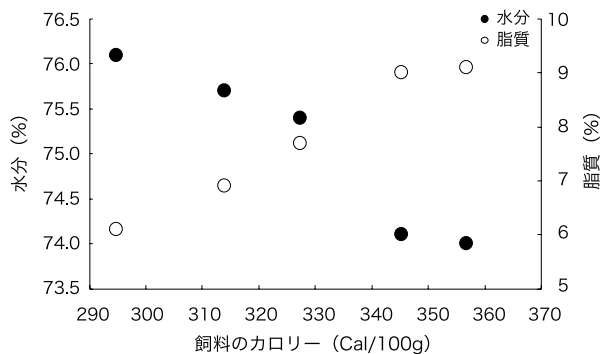


図5 飼料 Cal と魚体の水分、脂質含量の関係

それぞれの減り方、増え方が鈍っている。全魚
体の水分と脂質の間には非常に強い負の相関が
認められるが、水分含量75.5%付近に変曲点
が有るのではないかとと思われる。タンパク質も
水分と同じ傾向を示したが、これは脂質の増加
による相対的な減少によるものと思われる。

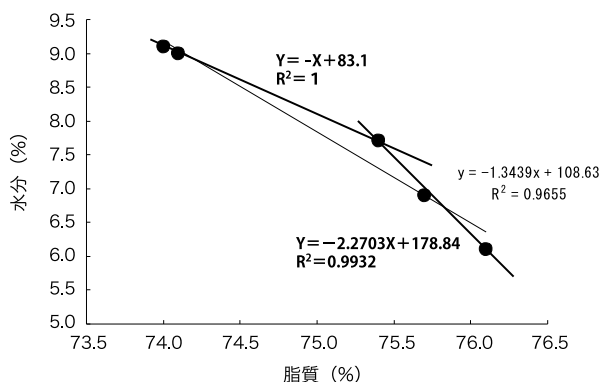


図6 魚体の水分と脂質の関係

表8 血漿成分の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
Glu (mg/dl)	86	96	107	86	94
T-Cho (mg/dl)	225	275	283	302	259
T-Pro (g/dl)	3.8	4.0	3.7	3.7	3.5
TG (mg/dl)	666	339	379	399	454
ALP (IU/L)	<50	<50	<50	<50	<50

表9 試験飼料の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
水分 (%)	7.7	7.1	7.0	6.7	6.4
タンパク質	47.7	46.7	45.8	44.4	42.5
脂質	7.3	9.8	12.2	14.9	17.7
炭水化物	24.0	23.1	22.3	20.9	20.5
灰分	11.2	11.0	10.7	10.3	10.0
Cal/100g	304	322	338	353	370
CP 比	6.37	6.90	7.38	7.95	8.71

血漿成分の分析値を表8に示す。T-Choのみが飼育成績と良く一致する傾向を示したが、他成分には一定の傾向は認められなかった。

3. 要約

・8gの幼魚では0.5gの稚魚より飼料中に要求する脂質量が少ない様である。

・成長, 飼料効率, タンパク質効率, 飼料成分の魚体蓄積率, 血漿総コレステロールなどから判断すると, 8g

の幼魚には魚油添加量9%, 345Cal/100g, CP比8.04の飼料が最も良い。

・飼料への魚油添加量が増えるに従って魚体の脂質含量が増える。脂質は食味に大きな影響を与えるので, 味に及ぼす影響を調べておく必要が有る。

・全魚体の水分と脂質の間には負の相関が有り, $Y = -1.3439X + 108.63$ (Y: 脂質, X: 水分), $R^2 = 0.9655$ の関係式が成り立つが, 水分含量75.5%付近に変曲点があるようである。

試験 -3. 若魚

1. 材料と方法

供試魚は試験-1, 2と同一ロットで, 平均体重45gの若魚を各区55尾用いた。試験飼料は市販のマス育成用No.4(ハードペレット)を基本飼料とした。試験飼料の分析値を表9に示す。飼育水槽は400L容FRP角型水槽で, 飼育期間は11月15日から1月26日である。飼育試験終了時に各区から10尾をサンプリングし, FA100麻酔下で魚体測定を行うと共に解剖して内臓の状態を調べた。更に各臓器の重量を測定し, それぞれの体重比を求めた。その他の飼育条件と調査項目は試験-2と同様である。

2. 結果

飼育結果を表10と図7に示す。生残率は全

表10 飼育試験の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
生残率 (%)	100	100	100	100	100
増重量 (g)	2600	2640	2770	3060	2790
給餌量 (g)	2880	2880	2880	2880	2880
飼料効率 (%)	90.3	91.7	96.2	106.3	96.9
タンパク質効率 (%)	189.2	196.2	209.8	239.5	228.1

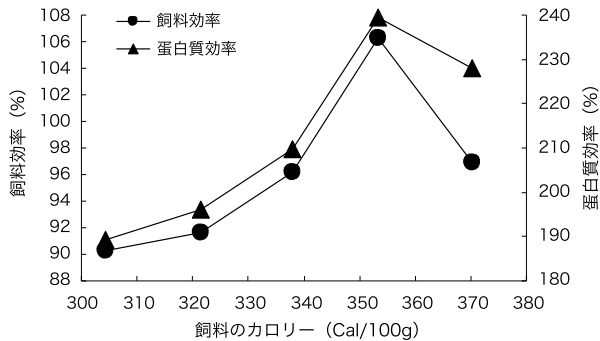


図7 飼料 Cal と飼料効率, タンパク質効率の関係

表 11 飼料成分の魚体蓄積率

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
タンパク質 (%)	32.5	32.6	34.0	37.7	34.7
脂質	53.7	51.1	73.6	71.5	62.2
灰分	17.9	17.2	17.5	24.9	13.6
Cal	32.0	33.0	42.4	46.1	42.7

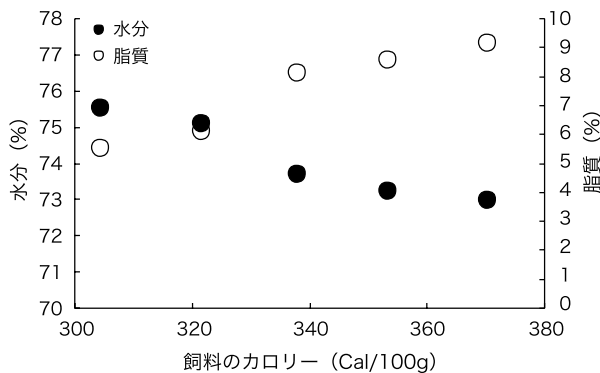


図8 飼料 Cal と魚体の水分, 脂質含量の関係

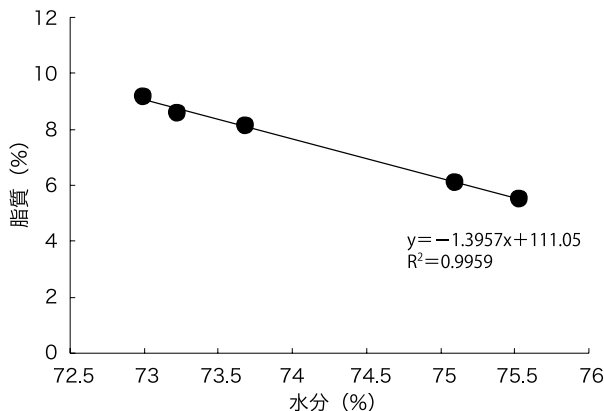


図9 魚体の水分と脂質の関係

て100%で区間差は無かった。増重量, 飼料効率, タンパク質効率は幼魚同様魚油の添加量が多くなるに従って高くなり, 9%区で最も高い値を示し, 12%になるとやや減少した。よって, 飼育成績を指標にすると魚油添加量9%, 353Cal/100g, CP比7.95の飼料が最も良い。

飼料成分の魚体蓄積率を表11に示す。タンパク質とカロリーの蓄積率は飼育成績と同様に魚油の添加量が多くなるに従って高くなり, 9%で最高になり, 12%になると減少した。脂質と灰分は幼魚とは異なり, 脂質は6%と9%添加区で, 灰分は9%添加区で他区より高い値を示した。この結果は, 若魚は幼魚と略同様の飼料カロリーを要求することを示すものと思われる。

飼育試験終了時の魚体成分は幼魚と全く同じ傾向を示した。飼料のカロリーと魚体の水分, 脂質含量との関係を図8に, 水分と脂質の関係を図9に示す。飼料への魚油添加量が増えてカロリーが高くなるに従って水分が減少して脂質が増えるのと, 水分と脂質の間に強い負の相関が認められるのは稚魚, 幼魚と全く同じである。但し, 水分含量73%から75.5%の範囲に変曲点は存在しないようである。

魚体測定と解剖の結果を表12に示す。肥満度(体重×100/尾叉長³)には明確な区間差は認められない。解剖時の肉眼所見では各臓器に異常は認められなかった。内臓体重比(心臓と腎臓を除く全ての臓器を含む内臓の体重比), 腹腔内脂肪蓄積組織(DL)体重比, 肝臓体重比は飼料への魚油の添加量が多くなるに従って高くなり, 9%で最大値を示し, 12%でやや小さくなった。これは飼料の脂質含量, 飼料脂質の魚体蓄積率, 魚体の脂質含量等が関係してい

表 12 魚体測定と解剖の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
尾叉長 (cm)	20.5	20.3	20.1	20.9	21.0
体重 (g)	94.4	97.4	88.7	108.7	104.1
肥満度	1.10	1.16	1.09	1.19	1.12
内臓体重比 (%)	8.08	9.05	9.52	10.50	9.17
DL 体重比 (%)	0.84	1.49	1.34	2.08	2.07
肝臓体重比 (%)	1.15	1.22	1.25	1.41	1.20

表 13 試験飼料の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
水分 (%)	8.6	8.2	8.0	7.7	7.5
タンパク質	46.7	46.0	44.4	43.1	42.1
脂質	8.4	10.9	13.5	15.9	18.9
炭水化物	22.2	21.7	21.4	21.1	20.9
灰分	10.6	10.2	10.0	9.7	9.4
Cal/100g	307	326	342	358	380
CP 比	6.57	7.09	7.70	8.31	9.03

るものと思われる。12% 添加区は脂質の過剰で、利用率が低下しているのであろう。

血漿成分はいずれも一定の傾向を示さなかった。

飼育試験終了時に内臓を取り除いて各区の魚を塩焼きにして食べ比べてみたところ、魚油無添加区の魚はやや水っぽくて味が薄かったが、魚油添加区の魚は味にコクが有って無添加区の魚より美味しかった。また、魚体の脂質含量が最も多かった 12% 区の魚でも油っぽい感じはしなかった。消化・吸収された脂質の多くの部分が腹腔内に蓄積されているのではないかとと思われる。

3. 要約

・成長、飼料効率、タンパク質効率、飼料成分の魚体蓄積率などからして、45g の若魚の場合は幼魚と略同様の魚油添加量 9%, 353Cal/100g, CP 比 7.95 の飼料が最も良い。

・飼料への魚油の添加量が多くな

るに従って魚体の脂質含量が増え、特に腹腔内脂肪組織への蓄積が著しい。

・魚体の水分と脂質の間には強い負の相関があり、 $Y=-1.3957X+111.05$ (Y: 脂質, X: 水分), $R^2=0.9959$ の関係式が成り立つ。水分が 73% から 77.5% の範囲に変曲点は認められない。

・魚油無添加区の魚は水っぽくて味が薄い、添加区はコクが有って美味しい。12% 添加区の魚でも油っぽい感じはしなかった。味の点からも魚油の添加効果が明らかである。

試験 -4. 成魚

1. 材料と方法

供試魚は試験 -1, 2, 3 と同一ロットで、平均体重約 100g の成魚を各区 31 尾用いた。試験飼料は市販のマス育成用 No.4 (ハードペレット) を基本飼料とした。試験飼料の分析値を表 13 に示す。飼育水槽は屋外の 200L 容角型コンクリート水槽を用い、飼育期間は 3 月 2 日から 5 月 24 日である。その他の飼育条件と調査項目は試験 -3 と同じであるが、魚体測定に供した魚から背肉と肝臓を採取し、一般成分の分析を行った。

2. 結果

飼育結果を表 14 と図 10 に示す。生残率は全て 100% で区間差は無かった。増重量、飼料効率、タンパク質効率は魚油添加量 6% 区が最

表 14 飼育試験の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
生残率 (%)	100	100	100	100	100
増重量 (g)	2592	2555	2900	2660	2630
給餌量 (g)	4025	4025	4025	4025	4025
飼料効率 (%)	64.4	63.5	72.0	66.1	65.3
タンパク質効率 (%)	137.9	138.0	162.2	153.4	155.1

も良い値を示し、それ以下でも以上でもやや低い値を示した。飼育成績を指標にすると、魚油添加量 6%, 342Cal/100g, CP 比 7.70 の飼料が最も良い。

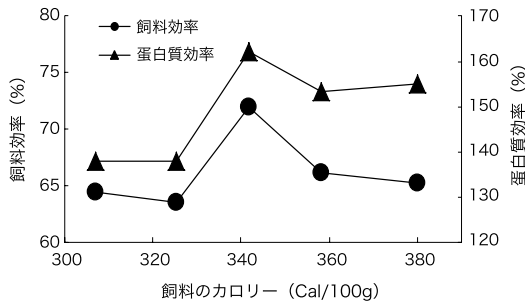


図 10 飼料 Cal と飼料効率, タンパク質効率の関係

表 15 飼料成分の魚体蓄積率

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
タンパク質 (%)	23.4	23.5	25.8	24.0	22.9
脂質	78.5	84.5	83.3	83.9	70.3
灰分	7.6	12.1	14.2	14.5	8.8
Cal	33.6	38.7	43.0	45.1	41.6

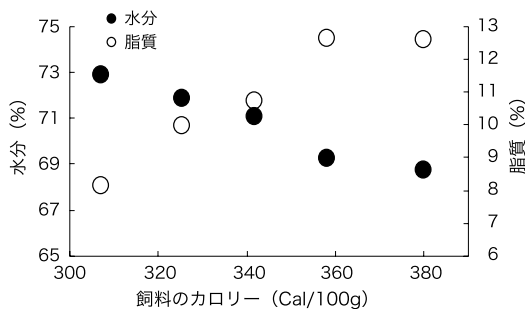


図 11 飼料 Cal と魚体の水分, 脂質含量の関係

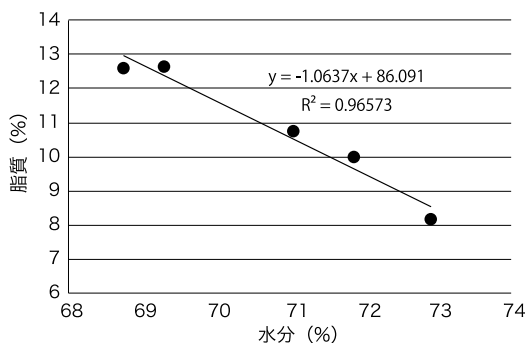


図 12 魚体の水分と脂質の関係

飼料成分の魚体蓄積率を表 15 に示す。タンパク質の蓄積率は飼育結果と同様に魚油 6% 添加区が最も高く、それ以下でも以上でも低い値を示した。脂質は 3-9% 添加区で高く、灰分とカロリーは 6% と 9% 区で高い値を示した。

飼育試験終了時の魚体成分は、魚油の添加量が多くなるに従って水分の減少と脂質の増加、タンパク質のわずかな減少が認められた。この傾向は試験 -1, 2, 3 と同様であった。飼料のカロリーと魚体の水分、脂質含量との関係を図 11 に、水分と脂質の関係を図 12 に示す。水分と脂質の間には $Y = -1.0637X + 86.091$ (Y: 脂質, X: 水分), $R^2 = 0.9657$ の関係式が成り立つ。水分含量 69% から 73% の範囲で両者の間に変曲点は認められない。

魚体測定と解剖の結果を表 16 に示す。肥満度に一定の傾向は認められない。解

表 16 魚体測定と解剖の結果

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
尾叉長 (cm)	25.1	25.7	26.6	25.8	26.6
体重 (g)	194.1	213.1	219.2	203.9	253.5
肥満度	1.23	1.26	1.16	1.19	1.35
内臓体重比 (%)	9.20	9.33	10.24	9.53	10.11
DL 体重比 (%)	1.07	1.48	1.95	2.23	2.26
肝臓体重比 (%)	1.28	1.17	1.13	1.17	1.24

表 17 背肉と肝臓の分析値

魚油添加量 (% 外割)	0	3	6	9	12
背肉					
水分 (%)	77.0	76.5	76.6	77.3	76.5
タンパク質	21.4	21.7	21.6	21.2	21.7
脂質	1.3	1.2	1.0	0.9	1.0
灰分	1.7	1.7	1.7	1.8	1.7
肝臓					
水分 (%)	73.8	73.0	73.9	72.4	72.9
タンパク質	15.6	15.9	16.3	16.3	15.7
脂質	5.8	6.2	5.4	7.1	7.1
灰分	1.5	1.5	1.5	1.7	1.5

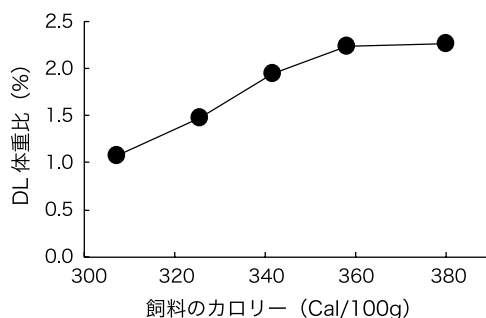


図 13 飼料 Cal と DL 体重比の関係

剖時の肉眼所見では各区とも内臓に異常は認められなかった。内臓体重比と DL 体重比は飼料への魚油添加量が多くなるに従って高くなり、内臓体重比は 6% 以上の添加区ではほぼ一定値を示し、DL 体重比は 12% 添加区で最も高い値を示した。肝臓体重比には一定の傾向は認められない。

背肉と肝臓の分析値を表 17 に示す。飼料への魚油添加量の増加は背肉と肝臓の成分にそれほど大きな影響を及ぼしていない。背肉の脂質含量は魚油の添加量が増えるに従って逆に減少する傾向さえ認められる。消化・吸収された脂質は図 13 に示すように、主として腹腔内脂肪組織に蓄積される為であろう。

血漿成分はいずれも一定の傾向を示さなかった。

試験 -3 と同様に飼育試験終了時に内臓を取り除いて塩焼きにして各区の魚を食べ比べてみたところ、魚油無添加区の魚はサッパリした味であったが、添加区の魚は味にコクが有り、美味しかった。魚油添加区間での違いは感じられなかった。魚油添加区で味にコクが有るのは背肉の分析値からして、脂質含量が高い為ではないようである。単なる肉部の脂質含量ではなく、脂質の存在場所（例えば肉と皮の境界部とか）や脂質の成分（脂質クラスや脂肪酸組成など）等が味に影響しているのかも知れない。

3. 要約

・ 100g 以上の成魚では、飼料への魚油の添加効果は稚魚、幼魚、若魚ほど明確ではなくなる。

・ 成長、飼料効率、タンパク質効率、飼料成分の魚体蓄積率などから、100g 以上の成魚には魚油添加量 6%、342Cal/100g、CP 比 7.70 の飼料が最も良い。

・ 消化・吸収された脂質は主として腹腔内脂肪組織に蓄積され、背肉や肝臓の脂質含量はそれ程変化しない。

・ 魚体の水分と脂質の間には負の相関があり、 $Y = -1.0637 + 86.091(X)$ (Y: 脂質, X: 水分), $R^2 = 0.9657$ の関係式が成り立つ。水分 69% から 73% の範囲に変曲点は認められない。

・ 魚油添加区の魚の方が味にコクが有って美味しい。魚油添加区間で味の違いは感じられなかった。この味のコクは単なる脂質含量の違いによるものではない。

・ 再確認が必要であるが、100g 以上のアマゴ成魚では飼料への魚油添加量が 9% を超えると痩せた魚の出現率が高くなる傾向が認められた。

考 察

稚魚、幼魚、若魚、成魚で最も良い飼育成績(増重量、飼料効率、タンパク質効率)を示した区の飼料への魚油添加量、Cal/100g、CP 比を示したのが表 18 である。なお魚体重は飼育試験開始時と終了時の平均体重で示してある。魚が大きくなるに従って飼料への魚油の添加量は少

表 18 稚魚、幼魚、若魚、成魚で最も良い飼育成績を示した飼料

平均魚体重 (g)	1.5	14	72.5	145
魚油添加量 (% 外割)	12	9	9	6
Cal/100g	362	345	353	342
CP 比	8.50	8.04	7.95	7.70

表 19 最も良い飼育成績を示した区の飼料成分の魚体蓄積率

平均魚体重 (g)	1.5	14	72.5	145
タンパク質 (%)	47.8	31.4	37.7	25.8
脂質	52.6	63.7	71.5	83.3
灰分	29.4	19.9	24.9	14.2
Cal	44.5	40.6	46.1	43.0

なくて良いこと、至適 CP 比も次第に小さくなること、単なる飼料のカロリーのみでは飼育成績の適切な指標にはなり得ないこと等が読み取れる。体重と至適 CP 比の関係を示したのが図 14 である。10g 以下の魚で高い CP 比の飼料を要求することが明らかである。魚が小さいうちは増重率が非常に大きいので、相対的な成長スピードが関係しているものと思われる。この早い成長を維持する為に多くの脂質を含む高カロリー飼料を要求するのであろう。つまり、魚が小さいうちは成長の為に当然タンパク質は重要であるが、それ以上に脂質が重要であると云うことになる。これはサケ・マス類の卵に非常に脂質が多いことと関係しているものと思われる。10g 以上の大きさになると要求される CP 比の傾きは小さくなり、一定の割合で減少していく。

表 19 に最も良い飼育成績を示した区の飼料成分の魚体蓄積率を魚体重別に示す。魚が大きくなるに従ってタンパク質の蓄積率が減少し、脂質の蓄積率が増えているのが明らかである。魚が小さいうちは飼料の脂質をエネルギー源として消費し、タンパク質を魚体に蓄積すること

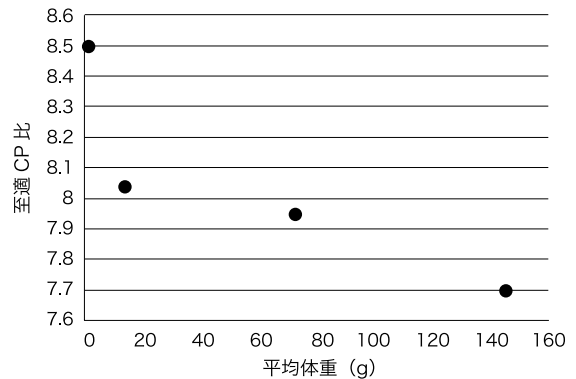


図 14 魚体重別飼料の至適 CP 比

によって成長しているのであろう。カロリーの蓄積率は魚の成長段階によって殆ど変わらないので、飼料のタンパク質、脂質含量とそれぞれの魚体蓄積率との間に一定の関係が有るものと思われる。灰分は魚の成長に従って蓄積率が減少する傾向が認められる。魚の成長に伴って魚体の灰分含量が大きく変化する傾向は認められないので、成長に伴う骨の化骨の割合や水中からの無機質の吸収・蓄積の量などが関係しているのかも知れない。

全魚体の水分含量と脂質含量の関係を魚体重別に纏めたのが表 20 である。いずれの大きさの魚でも両者の間には強い負の相関が認められ、一次直線式が成り立つ。その直線の傾きは魚が大きくなるに従って小さくなる傾向が認められる。つまり、魚が大きくなるに従って水分含量の増加に伴う脂質含量の減少が少なくなる。また、水分含量が 75.5% と 81.0% 付近において両者の間に変曲点が存在している。

表 20 全魚体の水分と脂質の関係

平均魚体重 (g)	回帰直線	R ²	水分範囲 (%)	変曲点
1.5	$Y = -1.5962X + 132.12$	0.9984	79.5-82.0	水分 81%
14	$Y = -1.3439X + 108.63$	0.9655	74.0-76.0	
	$Y = -X + 83.1$	1	74.0-75.5	水分 75.5%
	$Y = -2.2703X + 178.84$	0.9932	75.5-76.0	
72.5	$Y = -1.3975X + 111.05$	0.9959	73.0-75.5	無し
145	$Y = -1.0637X + 86.091$	0.9657	69.0-73.0	無し
全体	$Y = -0.7339X + 62.62$	0.9304	69.0-82.0	

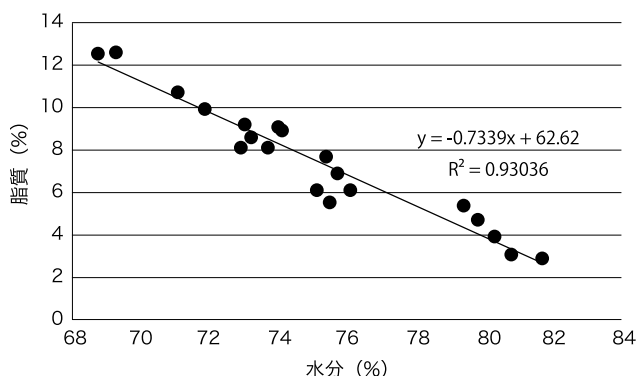


図 15 水分と脂質の関係 (全体)

試験 -1 から 4 を纏めて全魚体の水分含量と脂質含量の関係を示したのが図 15 である。それぞれの試験回次毎の数値に比べて回帰線の傾きが小さくなり、相関も弱くなっている。試験毎の分析に多少の誤差が有ったとしても、やはり魚の大きさによって回帰直線の傾きが変わり、両者の間に変曲点が有ると見做す方が妥当ではないだろうか。

飼料への魚油添加量が増えるに従って全魚体の脂質含量も増える傾向にあるが、背肉などの可食部の脂質含量はそれ程変化しない。これは消化・吸収された脂質の可也の部分が腹腔内脂肪組織に蓄積される為であると考えられる。

味の面からみると魚油無添加飼料で飼育した魚は味が薄くてサッパリしており、あまり美味しくないが、魚油添加飼料で飼育した魚は味にコクがあり、美味しい。3-12% の魚油添加量では特に味の違いは認められなかった。魚油添加区の魚の味にコクが有るのは単純な脂質含量の違いによるものではないことが分かったので、今後より詳細な検討が必要である。

これらの結果を十分に考慮して成長段階別にアマゴ用飼料の配合組成を考えるべきである。

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

“ガム市場”を創造した驚くべきヒット商品

—『グリーンガム』&『クールミントガム』株式会社ロッテ—

田形 暁作*

*TAGATA Yoshinari (TAGATA 食品企画・開発)

Key Words: ガム・ロングヒット食品・商品開発・ブランド化・マーケティング戦略

はじめに

株式会社ロッテは昭和 23 年会社を創業し、今年で 64 年目である。社名は、ドイツの文豪ゲーテの名作「若きウェルテルの悩み」のヒロイン「シャルロッテ」にちなんで名づけ、誰からも愛される会社になれるようにという願いが込められている。現在では、「お口の恋人ロッテ」として親しまれ、チューインガムをはじめ、チョコレート、ビスケットなど総合菓子メーカーへと成長している。また、事業の多角化と国際化にも取り組み、国内ではロッテリア、千葉ロッテマリーンズ、ホカロンなど多様な産業分野への多角化を進める一方、東南アジアを中心に事業の国際化を進めている。また、韓国のロッテグループでは食品事業をはじめ幅広い分野に着実な成長を続けている。現在、国内、海外を含めグローバルな企業グループへと邁進している。

1. 株式会社ロッテの会社概況

ロッテグループの売上高は約 5,220 億円であり、従業員数は約 4,700 名である（2012 年 3 月現在）。事業内容は菓子、アイスクリームなどの製造、ゴルフ場経営、ホテル経営などである。

主要製品はガム、チョコレート、キャンディ、ビスケット、アイスクリームである。

2. 株式会社ロッテの企業行動憲章

ロッテは、お客様に豊かな生活と夢を提供することを企業理念に掲げ、その実現に向けて次の七原則を定めている。

「企業理念」

お客様に豊かな生活と夢を提供する目的で 3 つのテーマを核に掲げている。

1. User Oriented

～お客様の立場になって考える～

ロッテでは「最も大切な顧客は消費者」という原点を忘れず、奉仕の心を持ち、人々の豊かな生活に貢献できる製品・サービスを提供していく。

2. Originality

～独創的なアイデアを探し続ける～

あらゆる事業領域において、独創的なアイデアを探し続けて、挑戦していく。常に、「チャレンジ精神」を発揮し、情熱をもって取り組む事で、環境や社会に貢献できる新たなビジネスチャンスを発見していく。

3. Quality

～すべてにわたり最上の品質を究める～

最高の原料・技術・設備による最高の製品とサービスを提供する。ロッテの考えるクオリティは製品そのものに加え、お客様に「楽しさ」、「おいしさ」、「やすらぎ」を約束する。

「企業行動憲章」

1. 安全で高品質な製品・サービスを提供する。
2. 正直な企業であり続ける。
3. 情報を伝える。
4. 働く人を大切にする。
5. 環境問題を重視している。
6. 社会貢献にも積極的である。
7. 海外でも社会貢献をする。

3. チューインガムの歴史と起源

1) チューインガムはメキシコ生まれ

チューインガムの歴史は、西暦 300 年ころ（日本の大和時代末期のころ）にメキシコ南部のユカタン半島に高度な文明を築いたメキシコのマヤ文明にさかのぼる。この住民たちは、当時群生していたサボディラという 20m ほどの巨木の樹液を採集して煮込み、それを固めて噛む習慣をもっていた。じつにソフトで弾力に富み、ふくよかな噛み心地で、いつまでも噛み続けることができた。これがチューインガムの原料で“天然チクル”であり、ガムの元祖である。



チクル採取

2) 引き継がれていく噛む習慣

繁栄を誇ったマヤ文明は、西暦 800 年ころ（奈良の大仏が完成したころ）を頂点として衰退していき、ほとんど姿を消してしまった。しかし、チクルを噛む習慣はメキシコ・インディオに引

き継がれ、16 世紀にスペインがこの地を征服した後は、スペイン系移民の間でもあつという間に広がっていった。

3) アメリカから世界のチューインガム

西暦 1860 年（日本では幕末のころ）、アメリカとメキシコの戦争で活躍したサンタ・アナ將軍が、天然チクルのふくよかな噛み心地と口の中をきれいにする役割に気づき、チクルを飴玉の大きさに切って売り出した。さらに、將軍の協力者であったトーマス・アダムがこれをアメリカに持ち帰り、甘味料を加えて売り出したところ爆発的な人気を呼んだ。この時に「チューイング・ゴム＝ゴムを噛む」と名付けられた。この「チューイング・ゴム」が、現在のチューインガムの始まりとなり、以後、世界中に広がるきっかけとなった。

4) チューインガムが日本に上陸

日本では 1916 年（大正 5 年）に初めてチューインガムが輸入され、1928 年（昭和 3 年）ごろから国内でも製造販売をする会社が、いくつから誕生した。アメリカのガムメーカーが日本に上陸し、「噛み菓子」という純和風の名前を付け、日本人向けに「チンドン屋」を使ったチューインガムの宣伝までしたと伝えられている。しかし、当時の日本人にとって、人前で口を動かすことは礼儀作法や美意識に反する行為として、受け入れられなかった。第 2 次大戦中、アメリカ軍の携帯食糧にチューインガムがあった。昭和 20 年の終戦と同時に進駐してきたアメリカ軍は栄養の行き届いた立派な体格の大男ばかりであった。その姿は復興に向かう当時の日本人にとっては、まばゆいばかりの光景であった。

彼らがいつも噛んでいたのがチューインガムである。日本の子供たちを街頭で見かけると、チューインガムを分け与えた。甘みに飢えていた子供たちにとっては天から降ってきた夢のようなプレゼントになった。進駐軍によってもたらされたチューインガムは、アメリカの豊かさ

の象徴でもあった。

生活のあらゆる面で急激に欧米化が進む中で、チューインガムはその代表的な嗜好品として、子供たちや新しいものが好きな大人たちによって、絶大な人気を持って受け入れられた。ファッションとして急速に日本人の間に浸透し、生活の洋風化とともに愛好者を急増させた。それに伴い、多くのガムメーカーが誕生した。その数は300～400もあったといわれている。殆どが家内手工業的なメーカーで量産化を目指したのは、わずか10数社だけだったようだ。当時のガムメーカーには2つの大きな課題があった。一つは、終戦直後ということで物資が乏しく、ガムを作る原料がなかなか手に入りにくかった。もう一つは、ガムを噛む習慣がなかった日本で、チューインガムを広く普及させる難しさであった。

4. ロッテガムの歴史

1) 1948年「ロッテ設立」

戦後日本の欧米化を見て、チューインガムは必ず日本人に受け入れられると確信し、1947年（昭和22年）4月、ガムを作り始めた。今の物と比べれば、おいしさでは劣っていたが、甘みに飢えていた当時では、飛ぶように売れた。チューインガムへの挑戦は必ず成功すると確信した。市場の将来性を洞察し、1948（昭和23年）6月28日、資本金100万円、社員10名で「株式会社ロッテ」を設立し、チューインガムの製造をスタートさせた。この当時、日本でのチューインガム原料は、合成樹脂が主流であった。しかし、チューインガムの本場アメリカでは「天然チクル」が採用されていた。

ロッテは創業当初から、この本場ならではの噛み心地が得られ、おいしさが持続する「天然チクル」の素晴らしさに注目し、当時、輸入規制の中で積極的に関係官庁に輸入促進運動を展

開していった。

2) 国産初の「天然チクル」を使用したガムが登場

『グリーンガム』、『クールミントガム』が発売。

1950年代前半に貿易の自由化が始まり、輸入規制のあった「天然チクル」も入手可能となった。そして、1954年（昭和29年）にロッテは、国産で初めて天然チクルを使用した「パープミント」ガムを市場に送り出した。同じ年に発売された「スペアミント」ガムは、天然チクルと厳選された各種原料を使用し、特にスペアミントの清涼感を生かした製品として、品質・市場ともに支持された画期的な商品であった。続いて、現在も好評の超ロングセラー商品『グリーンガム』を発売。「お口のエチケットガム」として、デートを楽しむ若者の間で評判となった。さらに、グリーンガムと並ぶロングセラー商品『クールミントガム』を発売。そのペパーミントの爽快な刺激は「辛口、大人のガム、お口の中は南極の爽やかさ」というキャッチフレーズとともに、大きな話題を呼んだ。こうしてロッテは、チューインガムのトップメーカーの地位を一層確実なものにした。



3) 機能に特化した新たなガムの登場

1980年代前半、わが国でも栄養学・予防医学・家庭医学に関する知識が急速に普及向上し、菓子に対しても健康志向の風潮が強まってきた。そのニーズをいち早くキャッチし、ロッテは従来のガムに新しい機能を付加させた目的ガムを製品化した。本来、ガムには、噛むことによる「お口すっきり・眠気スッキリ・お口をうるおわす」という3つの大きな機能がある。しかし、消費者ニーズを調査すると、従来の機能をより際立たせた「眠気を吹き飛ばす・頭をスッキリさせ

る・歯磨き効果がある・義歯でも安心して噛める」などの目的を持つガムを求めていることがわかった。その結果、ロッ



テが開発したのが、眠気ススキリの「ブラック・ブラック」、お口ススキリの「フラボノ」、歯につきにくい「フリーゾーン」の3種類の目的のガムである。

4) 健康志向を意識したガムへ

平成に入ると、社会のヘルシー志向の高まりに応えるように、シュガーレスガムが登場した。さらに、シュガーレスガムに続いて話題を集めたのが1997年（平成9年）の「キシリトールガム」の登場である。すでにロッテは、20年前から虫歯の原因となる酸を作らない甘味料のキシリトールに着目し、砂糖に代わる原料として研究を重ね、1997年に商品化を実現した。このキシリトールの登場によって、新たな健康志向時代に向けた社会ニーズを掘り起し、菓子・嗜好品といった分野を超えた、新しい領域迄躍進を続けていくことになった。



健康志向時代に向けた社会ニーズを掘り起し、菓子・嗜好品といった分野を超えた、新しい領域迄躍進を続けていくことになった。

5) 新しいガムの境地を切り開く、次世代のガム

日常のすみずみまで浸透したガム。しかし、10代から20代の若い世代は、ガムから離れつつあった。ロッテは、若い世代にもう一度ガムを楽しんで貰いたいという思いから、新たなガムを世に送り出した。2006年に発売した「ACUO」は、20代が自分たち向けのセンスのいいミントガムを楽しみたい”という思いに応えるガムとして開



発した。息スッキリが長持ちする「MFL アクオカプセル」技術を開発し、「息をデザインする」というコンセプトを実現した。また、2009年に発売した「Fits」は別の切り口で若い世代の心を掴むことに成功。若い人たちの多くが感じていた「ガムを噛むと顎が疲れる」という不満を解消することにより、噛みごこちが「フニャン」とした新感覚のガムとして登場した。

5. ガム市場を創造した『グリーンガム』と『クールミント』の商品情報

1) 『グリーンガム』

ロッテの数多いロングセラー商品の中でも、ロッテチューインガムのトップブランドとして54年間愛され続けているのが『グリーンガム』である。1957年（昭和32年）発売以来、滑らかな噛み心地に加え、クロロフィル（葉緑素）を配合、さらに、嗜好品として風味（ペパーミント）を備えた画期的なガムとして人気を博してきた。「お口のエチケットガム」としてデートを楽しむ若者の間で評判となった。さらに、翌年からスタートした『お口の恋人ロッテ』提



グリーンガム グリーンガム 3P グリーンガム 5P
9枚×3パック 9枚×5パック

原材料名:砂糖、水あめ、ブドウ糖、エリスリトール、カカオ抽出物、還元パラチノース、ガムベース、香料、軟化剤、甘味料(アスパルテーム・L-フェニルアラニン化合物)、着色料(銅葉緑素)、チャ抽出物、(原材料の一部にゼラチンを含む)

内容量:9枚

栄養成分表(1パック9枚あたり)

熱量 81kcal, タンパク質 0g, 脂質 0g, 炭水化物 20.4g, ナトリウム 0mg

2012年9月20日現在

平成 12 年（2000 年）には日本食糧新聞社から「ロングセラー賞」を受賞している。授賞理由は「「お口のエチケツトガム」として、デートを楽しむ若者中心に爆発的な評判になり、その後も、絶え間ない品質の見直しと時代に合わせたデザイン改良を行い、日本のガムの代表的ブランドとして長く愛され続けている」ということである。特に、1993 年に人気グラフィックデザイナーの佐藤卓氏を起用して、23 年ぶりに時代の変化に合わせて大幅にパッケージのリニューアルを行ったことはその代表的な例である。

8. ガム専業メーカーとして先駆的な販売会社「ロッテ商事」設立

『グリーンガム』を発売して2年後の1959年(昭和34年)、産業界は戦後の混乱期から立ち直り、大量生産・大量消費時代の幕が開けた。菓子業界でも量産化しやすいビスケット、チョコレート、チューインガムに注目が集まり、特に、チューインガムは製造技術の向上により、市場の拡大が見込まれた。そのため、菓子総合メーカー、薬品メーカーなどが新規参入してきた。これを迎え撃つため、ガム専業メーカーのロッテは販売面の強化を図った。それまでに全国各地にロッテ会を結成し、特約卸店を統合した販売網の確立を進めてきた。翌年からはこの組織をさらに発展させ、二次卸店にまで販売網を拡大した。そして、昭和34年12月販売部門を独立させて、ロッテ商事株式会社を設立し、生産と販売の分離を断行した。これは大量消費時代において、大量生産と大量消費の両極をつなぐ大量販売の仕組みを分析した結果下した結論であった。

9. シェア1位の弾みになった「1,000万円懸賞」

昭和36年(1961年)3月、ロッテは「天チクセル」企画委員会を発足させた。「品質志向のロッテ」のイメージを流通機構ばかりでなく、消費者にも定着させるための戦略を有効に展開していくことを目的としたものである。企画委員会では奇想天外なアイデアが続出したが、その中からマスコミが取り上げる可能性が高いもの、消費者に強力で訴えるもの、という

二つの基準に照らして、特賞1,000万円という懸賞販売企画が選ばれた。当時の物価が、新聞代1か月



390円、米10キロ870円、週刊誌40円、公務員初任給1万4,200円などという時代の1,000万円である。ただし、現金では射幸心を刺激し、社会的影響が大きすぎるということから、金銭信託証書にし、さらに学校賞として当選者の指定する学校に100万円を寄付するなどの配慮がなされた。

この企画の最大の目的は「天然チクル」という名称を消費者にってもらうこと、さらに、チューインガムに対する消費者の駄菓子イメージを拭い去り、ロッテのチューインガムは噛み心地を主体にした品質志向のガムであるというイメージを定着させることにある。そして、4月16日を期して全国一斉に発表され、一大キャンペーンが熱く繰り広げられた。新聞、テレビ、ラジオの提供番組やスポット、吊り広告、60万枚のポスター、100万枚のチラシなどを動員、過去例を見ない大懸賞に日本中が沸き立ったのである。

応募は予想の10倍を超え、760万通であった。消費者の脳裏には「ロッテ＝品質志向のガム」というイメージが焼き付けられた。そして、7月27日、抽選会が東京、有楽町の日劇で華々しく挙行され、静岡県掛川市の男性が選ばれた。こうして、大反響のうちに天チクセルは幕を閉じたが、その影響はそのままロッテの売り上げとなってはね返ってきた。昭和34年から36年までの3年間でチューインガム市場の伸びは1.8倍であったが、ロッテは3倍強という驚異的な伸びを見せ、王座を奪い取ったのである。

10. 『グリーンガム』&『クールミントガム』をターゲット、TPOと5Pにのっとり紹介

新商品を開発し、その商品がお客様の手元に届くために、筆者は新商品開発5Pをチェック用に使用している。

先ず第一に『Product』ありきである。『Produc』

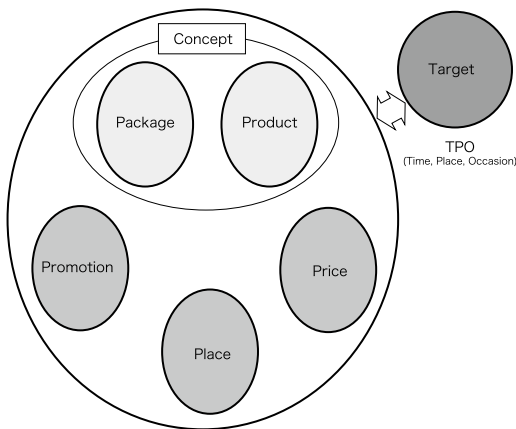


図1 商品開発 5P; 開発品はユーザーの手元に届く仕組みになっているか

には商品コンセプト、商品仕様、ネーミングなどを決定しなければならない。

第二は『Package』である。包装仕様、デザインなどを決定しなければならない。

第三は『Price』である。

第四は『Place』である。『Target』の属性を定め、お客様に届けるにはどのチャネルが良いのか。量販店なのか、CVSなのか、専門店のなか、ドラッグなのか、それとも通販なのか。色々なチャネルがあるので、選択と集中が必要になる。

第五は『Promotion』である。店頭プロモーション、媒体プロモーションなど費用がかかるので効果的なメディアミックスが重要である。

最後に 5P ではないが、『Target』がある。全ての 5P は『Target』を明確にした後のことである。『Product』は『Target』が明確にならないと決まらないはずである。更に、包装仕様を決定するうえで重要なのが T (Time), P (Place), O (Occasion) である。

この考えに基づき、『グリーンガム』と『クールミントガム』の開発背景を整理してみる。『Product』の差別化技術は「天然チクル」である。ガム発祥の紀元前から、メキシコ、ユカタン半島でマヤ族は天然チクルを使用していた。戦後、

アメリカ進駐軍が日本人の子供たちに手渡した板ガムも「天然チクル」である。当時の国内ガムメーカーは酢酸ビニル樹脂が主流であった。その理由は、戦前・戦後は「天然チクル」は入手が困難であったためである。ロッテはガム市場に本格的に参入するときは、噛み心地の良い板ガムということは決めていた。従って、「天然チクル」の入手に注力していた。

『Package』はアメリカで販売されていたように、板ガム一枚一枚を包装し、さらに、紙のケースで包んだ。製造工場、包装設備も新たに導入した。

『グリーンガム』の『Price』は発売した昭和 32 年（1957 年）に一個 20 円で販売した。当時の物価は、かけそば 30 ～ 35 円、ポップコーン 1 袋（30g）30 円、缶ジュース 40 円であった。従って、子供の駄菓子としては高価であった。やはり大人のデートの時に食べる嗜好品的存在であった。

『Place』は、『グリーンガム』発売 2 年後の昭和 34 年（1959 年）製販分離を企業戦略とした販売会社「ロッテ商事株式会社」を設立した。ガム専業メーカーとして販売会社を設立したのは当時としては先駆的である。大量消費時代にふさわしい大量販売を推進する態勢作りをした。

『Promotion』は画期的な企画が 2 つあった。

一つは昭和 36 年（1961 年）に実施された「1,000 万円懸賞」である。品質志向のロッテを消費者に印象づけるのが最大の目的であった。『グリーンガム』発売後 4 年目、『クールミントガム』（20 円）を発売した翌年である。この企画でガム市場の王座を奪回した。他の一つの企画『グリーンガム』発売の翌年、昭和 33 年から、スタートした『お口の恋人ロッテ』提供の「ロッテ歌のアルバム」である。毎週日曜日の午後 0 時から始まる歌謡番組で司会の玉置宏の“一週間のごぶさたでした”から始まる名調子の語り

で、「デートのお供にグリーンガム」がすっかりおなじみになった。実に、30年間続いた最長の歌番組となった。『クールミントガム』が発売されると「お口の中は南極のさわやかさ」をキャッチに『グリーンガム』と一緒に宣伝された。この結果、『グリーンガム』と『クールミントガム』は国内のガム市場を創造し、着実な市場に成長させた。また、ガム市場では最も

注目される商品になり、ロッテの柱商品へと成長した。

11. ガム市場動向

ガムの市場動向は図2に生産数量の推移を、図3に生産金額の推移と小売金額の推移を示した。出典は日本チューインガム協会である。

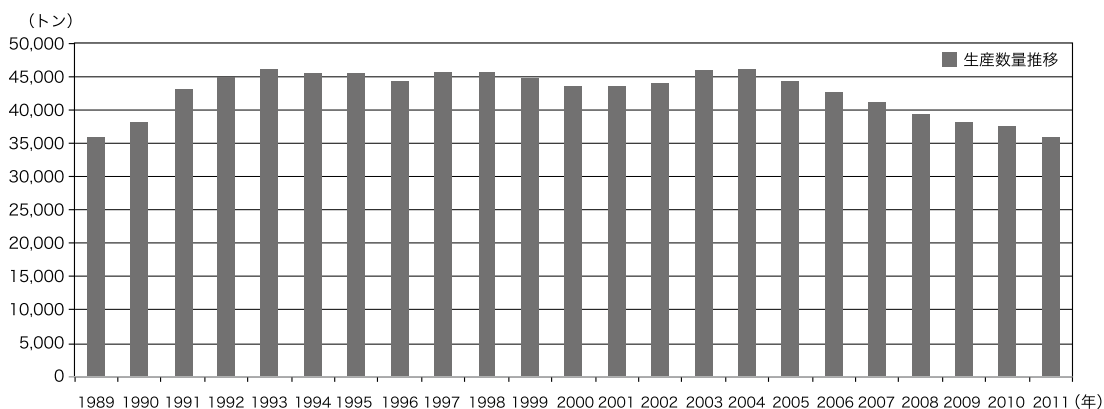


図2 ガム生産数量推移

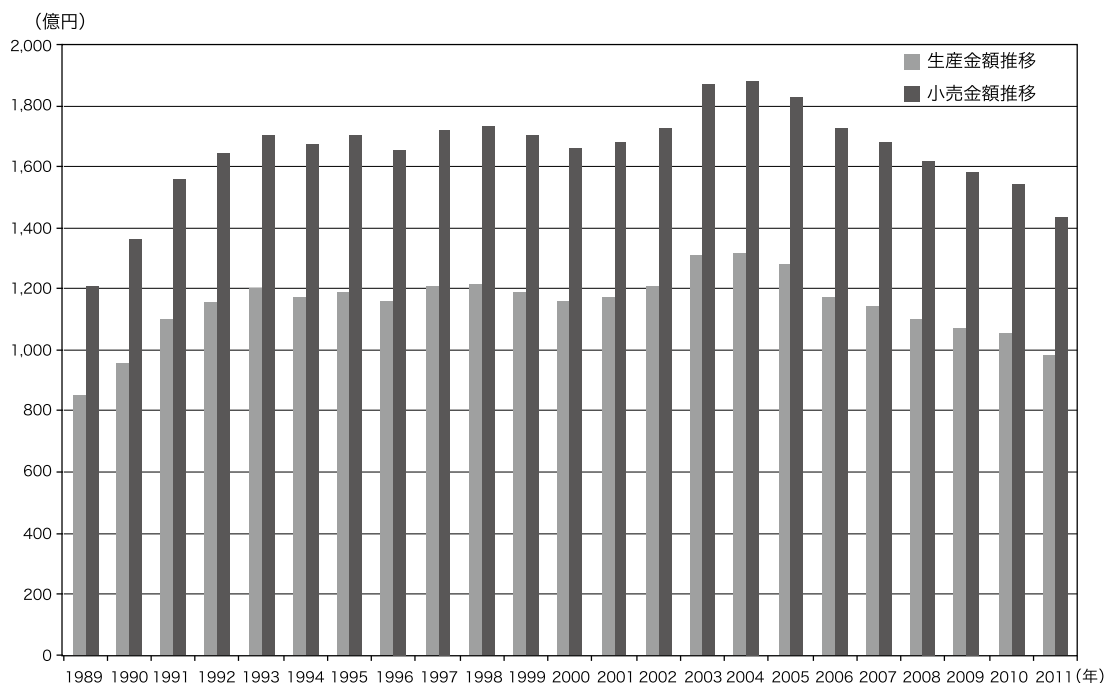


図3 ガムの生産金額推移と販売金額推移

出典：日本チューインガム協会

1989年（平成元年）から2011年（平成23年）までの推移を示した。生産数量、生産金額、小売金額とも2004年（平成16年）がピークである。ちなみに、生産数量は46,100トン、生産金額は1,317億円、小売金額は1,881億円であった。2004年以後は2011年まで毎年、減少してきている。この原因は、若者のガム離れによるものと推察されている。

おわりに

『グリーンガム』は昭和32年（1957年）発売、『クールミントガム』は昭和35年（1960年）発売。製販分離で販売会社「ロッテ商事株式会社」が設立されたのが昭和34年（1959年）である。「天然チクル」をガムベースにした差別化商品ができたタイミングを見計らって、昭和33年

から『お口の恋人ロッテ』提供の「ロッテ歌のアルバム」を放映開始し、昭和36年には「1,000万円懸賞」を実施した。差別化した強い商品を開発し、その生産体制と販売体制を確立し、タイミングよく2つのインパクトある『Promotion』を実施した経営判断には驚きを感じる。昭和32年から36年で国内のガム市場が確立されたと同時にロッテがガムメーカーとして不動の位置を確保した最重要時期である。

『グリーンガム』は昭和32年（1957年）発売後55年目となり、『クールミントガム』は発売後52年目となる。2品とも超ロングヒット商品である。ロッテはその後、画期的な「キシリトール」ガムを開発・上市し、売り上げに大いに貢献している。今後はガム市場を再度、活性化する商品を創造されることを切に望む。

【参考文献】

- 1) ロッテ 50年のあゆみ 発行日 平成10年6月 発行 株式会社ロッテ
- 2) ガム噛む読本 平成18年10月1日初版 発行 株式会社ファミリー



“薬膳”の知恵 (71)

Key Words : 薬膳 ■ 食養生 ■ 癌 ■ デザイナーズフード

荒 勝俊*

都市化、工業化の進展により、環境が悪化し、発癌物質となる可能性の有る物質が増えてきた。更に、食生活の欧米化に伴って、日本人の死因の第一位は癌が占める様になった。

現代医学において、癌は局部組織器官の疾病と考えられている。一方、中医学においては、癌は身体の気・血・津液バランスや陰陽バランスが崩れ、それが原因となって生体の歪みが局部に生じた疾病と考えられている。従って、中医学における癌に対する対処方法は、身体全体の歪みを改善し、癌発生条件の解消を促す事が主に行われる。

癌になる要因としては、高年齢化、環境の悪化、食生活の乱れ、ストレスの長期化、免疫機能の低下、喫煙、など様々ではあるが、総合的に癌になる原因の50%は普段の食生活に有ると言われている。1990年以降、アメリカにおいて癌罹患率が減少しはじめた。この鍵となったのが、アメリカが国家を挙げて行った癌予防が期待できる化学物質を含む食品（デザイナーズフーズ）のリスト作成であった。1日5皿以上の野菜や果実の摂取を奨励し、禁煙を進めた

結果と考えられている。

中医学では人体を一つの有機的統一体と考え、人体の構成要素である気・血・津液のバランスを改善させる事でその人が本来もっている臓器の機能を回復させ、身体内部を整え、新陳代謝を改善し、食生活を正常化する事で改善できると考えており、癌予防にもつながる考え方である。

そこで、中医学の基礎概念である陰陽五行学説に基づき、健康管理や病気治療のために食材の持つ様々な機能を組み合わせで作った“薬膳料理”を食す事で、人が本来もっている臓器の機能を回復させ、身体内部を整える事で癌に対する予防ができると考えている。



1. 中医学における癌



癌に関する記述は、殷時代の甲骨文字にまで遡る。また、周礼（周王朝の理想的な制度について周公旦が書き残したもの）には“瘍医（外科医）”といった専門医の記録も残っている。

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

歴代の中医学者は、七情鬱結が原因で脾胃が損傷を受け、気血の停滞により“癥（腫塊が固定して移動しないもの）”や“積聚（腹の腹痛を伴う塊）”が形成されると記している。張景岳は“景岳全書”の中で「脾胃不足及び虚弱失調の人、多くは積聚の病有り」と記している。

中医学における癌の証は、「正気内虚」「陰陽・気血の失調」「痰瘀毒結」である。この証に対する治療は、身体バランスを調整し、癌の発生条件の解消に努める事が重要となる。

用いられる方剤としては、気を補い体に活力を生み出す効果を有する人参、白朮、大棗、などの補気薬がよく用いられる。また、これらの生薬には細胞の突然変異抑制効果、DNA損傷の復元効果を有する事が実験的に証明されている。

細胞の免疫機能を促進する中成薬として、人参、黄耆、霊芝、猪苓、冬虫夏草、などの生薬がよく用いられる。丹参、当归、冬虫夏草、霊芝、黄耆、人参などは免疫細胞の貪食（異物を細胞内に取り込む）能力を高める効果が知られている。人参や霊芝は、その他に癌細胞を攻撃するNK（ナチュラル・キラー）細胞を活性化する効果を有する事も報告されている。また、白芍、人参、黄耆、霊芝には、体内のインターフェロンを誘発する働き、枸杞子、黄耆、人参などにはIL2を誘発する作用が報告されており、抗癌効果が期待できる。



2. 癌の食養生



最近、癌の予防における食生活の重要性が認識されだした。きっかけは、1970年代にニクソン大統領が行った“食生活と癌の発生の因果関係を科学的立場から解明する”といった国家的プロジェクトによるものが大きい。得られた膨大な研究成果の多くは、中国の“医食同源の

思想”あるいは“食養の考え方”を支持するものであった。つまり、癌予防に有効な食品の多くが、中国の生薬や薬膳で用いられていたものであった。薬膳とは、中医学理論に基づいて作られた料理や献立をいい、健康増進に効果のある食材や生薬を用い、料理としての嗜好味はもちろん、病気の罹患状況や体質、生活する上での季節や住んでいる土地、などを考え合わせた食療法の一つである。日常の食物によって健康を維持し、病気を予防し、長寿を保つという薬食同源の思想に基づいた食養生の考え方が薬膳の基礎となっている。

疫学的世界的権威として知られるイギリスのリチャード・ドル博士らは、世界中の癌疫学研究を参考にして癌の原因を数値化し1981年に発表した。これをみると、食物・栄養が癌発生の原因（35%）、タバコ（30%）、職業（4%）、アルコール（3%）、と見積もっている。ここで誤解をしてはいけないのは、食物・栄養とは植物にもともと含まれている発癌物質や、食材同士が生体内で反応して発癌物質に変化する成分を含む食材、大腸の細菌叢を変化させて発癌物質を発生させる食材、食塩摂取や脂肪摂取の過多、等のことを指している。これは、癌の予防に食事がいかに大切な事を示している。



3. デザイナーズフードと癌



1990年にアメリカは国家を挙げて国立癌研究所が中心となって、癌予防が期待できる化学物質を含む食品のリストの作成（デザイナーズフード）を行った。さらに、得られた結果に基づいて、国民に1日5皿以上の野菜や果実の摂取を奨励すると共に禁煙の推進を進めた結果、癌の罹患率が大幅に減少した。

ここで少し詳しくデザイナーズフードに関して述べる。国立癌研究所が発表した癌予防効果

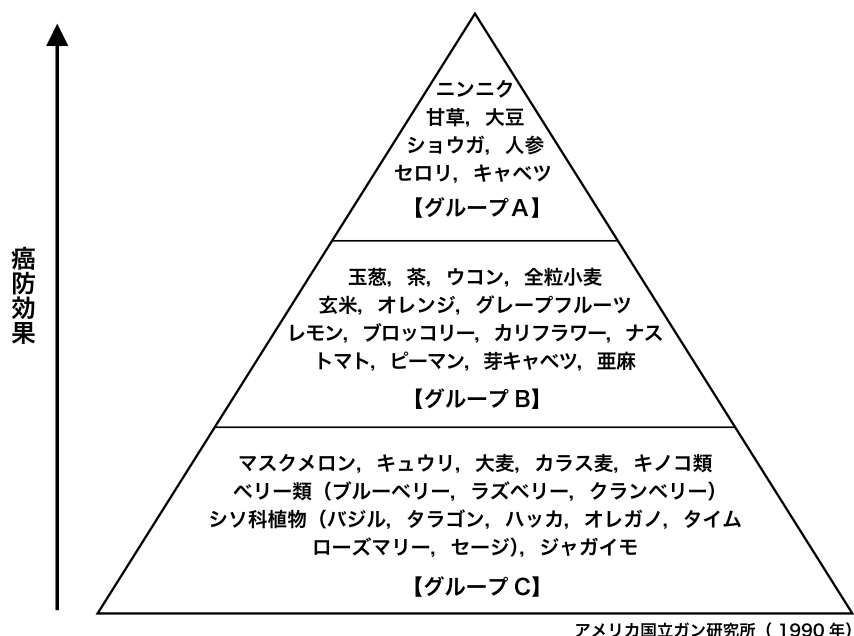


図1 デザイナーズフード

の有る食品として、約40種類の植物性食品が発表された。これらの食品は3つのグループA, B, Cに分けられ、グループAが最も癌予防効果が高く、グループBが2番目に予防効果があり、グループCが、3番目に予防効果が有るとするものである。

1) グループA

ニンニク、甘草、大豆、ショウガ、人參、セロリ、キャベツ

①ニンニク：抗酸化作用を有するS-アリルシステイン、ジアリルスルフィドが含まれ、癌予防に効果を有する。前立腺癌の発生を低下させるという報告も有る。ただし、血液凝固に関連する薬剤との併用は、薬効作用を強める可能性があるので注意が必要。

②甘草：多くの漢方処方に含まれる重要な生薬で、薬の副作用を抑制する効果を有する。

③大豆：抗酸化作用を有するイソフラボンを含む。また、タンパク質や多価不飽和脂肪酸が含まれており、LDLコレステロールを下げ、糖代謝を改善して2型糖尿病のリスクを減らす

効果も高い。糖尿病は癌発症リスクも高めるので、大豆による糖代謝の改善は、結果として癌発症リスクを減らす事につながる。大豆には、食物繊維も多量に含まれており、大腸癌の予防効果も高い。

④ショウガ：抗酸化作用を有するショウガオールやジンゲロールが含まれる。また、血行を良くし、体を温める作用を有し、免疫力を高める効能が有る。

⑤人參：抗酸化作用を有するβカロチンが含まれる。また、αカロチンを含み、癌抑制効果が高い。

⑥セロリ・キャベツ：抗酸化作用を有するビタミンCが多く含まれる。キャベツに含まれるイソチオシアネートは、ニトロソアミンの活性化による癌発生を防ぐと言われている。また、大腸癌を予防する食物繊維、遺伝子の損傷を防ぐクロロフィルのほか、スルフォラファンなどのイソチオシアネートやステロール、インドールなどの癌予防物質が含まれている。また、粘膜の強化・再生を助けるビタミンU・Kを含み、

自然治癒力を高める効果も高い。

2) グループ B

玉葱、茶、ウコン、全粒小麦、玄米、オレンジ、レモン、グレープフルーツ、ブロッコリー、カリフラワー、トマト、ナス、ピーマン、芽キャベツ、亜麻

①玉葱：抗酸化作用を有するアリシンが含まれる。

②茶：茶カテキン類は癌細胞の増殖を抑える効果を持つ。

③ウコン：クルクミンは体内において強力な抗酸化物質に変わり、癌細胞の増殖抑制効果を発揮する。

④全粒小麦（精白などの処理において糠となる果皮、種皮、胚、胚乳表層部といった部位を除去していない穀物）：全粒小麦に含まれるフィチン酸の単独投与で癌や腫瘍の抑制効果を確認。

⑤オレンジ、レモン、グレープフルーツ：抗酸化作用を有するビタミン C、フラボノイド、カロテノイドが含まれる。

⑥ブロッコリー：抗酸化作用を有するスルフォラファン、ビタミン C が含まれている。

⑦カリフラワー：抗酸化作用を有するビタミン C が含まれている。

⑧トマト：抗酸化作用を有するリコピンや β カロチンが含まれる。

⑨ナス：抗酸化作用を有するナスニンというアントシアニン色素が含まれる。

⑩ピーマン：ビタミン C、ビタミン E などの癌抑制物質が含まれる。

⑪芽キャベツ：芽キャベツを含むアブラナ科の野菜に、直腸、胃、肺、食道、膀胱のがんを予防する効果があることを確認。また、キャベツ同様に、遺伝子の損傷を防ぐクロロフィルや、活性酸素を無毒化するセレン、遺伝子の損傷を抑えるイソチオシアネートやインドール、 β カロチン、ルテインなど、多種類の抗癌成分が含

まれる。特に芽キャベツに含まれる抗がん物質のなかでも注目したいのは β カロチンのほかに、明るい黄色の色素であるルテインが多いのが特徴である。ルテインの発癌抑制効果は現在非常に注目されている。

⑫亜麻：亜麻の実に含まれる α -リノレン酸は、体内で必要に応じて n-3 系（オメガ 3 系）脂肪酸グループの EPA, DHA に作り変えられる。EPA, DHA は血中の LDL コレステロールを減らしたり、癌の発生や増殖を抑制する働き（特に乳癌、肺癌、大腸癌に有効）を有する。

3) グループ C

マスクメロン、キュウリ、ベリー類（ブルーベリー、ラズベリー、クランベリー）、大麦、カラス麦、キノコ類、シソ科植物（バジル、タラゴン、ハッカ、オレガノ、タイム、ローズマリー、セージ）、ジャガイモ

①メロン：抗酸化作用を有する β カロチンが含まれる。近年、メロンの改良種から抽出したオキシカインが新世代の抗酸化物質として、癌の進行抑制や抗老化に有効である事から注目されている。

②キュウリ：抗酸化作用を有するビタミン C、 β カロチン、マグネシウムを含む。また、ラリシレシノール、ピノレシノール、セコイシソラリシレシノールという 3 種類のリグナンが含まれており、これらの植物性エストロゲン成分が乳癌、子宮癌の癌細胞の増殖、血管形成の抑制作用がある事が動物実験で確認されている。キュウリの仲間の野菜に含まれるポリフェノール類の苦味成分であるクルビタシン A, B, C, D, E は、その持つ抗癌作用特性が現在研究対象となっており、クルビタシンの作用によって癌細胞の生存をブロックできる事も明らかになっている。

③ベリー類（ブルーベリー、ビルベリー、ラズベリー）：抗酸化作用を有するアントシアニンを含む。米国での動物実験によると、ブルー

ベリーに含まれるテロステイルビーンと呼ばれる化合物が、その予防にかなり有効だと報告されている。

④大麦：食物繊維を多く含み、大腸癌の予防に効果。

⑤カラス麦：食物繊維を多く含み、大腸癌の予防に効果。

⑥キノコ類（シイタケ、シメジ、エノキタケ、マイタケ、キクラゲ、エリンギ、ナメコ、マッシュルームなど）： β -グルカンを多く含み、免疫力を高める作用が高い。

⑦シソ科植物（バジル、タラゴン、ハッカ、オレガノ、タイム、ローズマリー、セージ）：シソ科植物に含まれる多くのジテルペン類に皮膚癌、肺癌、大腸癌などの抑制効果があることが、動物実験によって確認。

⑧ジャガイモ：細胞の突然変異を予防するクロロゲン酸（ポリフェノールの一つ）が豊富に含まれる。特にジャガイモの皮に多く含まれている。また、ジャガイモに含まれる抗癌成分としてフィチン酸がある。通常、鉄や銅などの金属が体内に摂り込まれると、体内のいろいろな物質と結合して安定化し無害化される。しかし、結合する対イオンが存在しないとフリーラジカルとして働き、細胞の酸化が連鎖的に進んでしまう。フィチン酸は金属がフリーラジカルになるのを抑える働きがあり、酸化を抑える働きを有する。

【中国・上海事情⑬】

上海も暑い夏を迎え、初夏から旬になる桃の美味しい時期になってきた。

桃の原産国は中国と言われているが、中国では当時“毛毛（モモ）”という名がついていた。名前の通り、硬い果肉の表面に沢山の毛で覆われた果物だったようだ。中国からシルクロードを通して西域からベルシャ、古代オリエント一帯、ギリシャ、ローマへと伝わり、17世紀に



図2 桃

はアメリカ大陸にまで伝わったと言われている。中国から西に伝わった桃の果肉は黄色くなり、アメリカ・カリフォルニア州産の“黄桃缶詰”が世界中に輸出されるようになったのはご存知の方も多いと思う。上海の市内において、短い時期ではあるが“黄桃”を生で食べる事ができる。日本においては、大久保重五郎が明治時代に中国から伝わった品種を自然交雑する中で、上海水蜜桃の系統の“白桃”を発見し、その後優良品種が相次ぎ産まれた。という事で、“白桃”は日本独特の桃なのである。

昔、中国において桃は桃源郷の不老不死の“仙果（せんか）”と考えられていた。この桃を、西王母（中国で古くから信仰されている仙女）の誕生日を祝う会・蟠桃会（3月3日）において食べる慣わしとなっていたが、『西遊記』の主人公である孫悟空が盗み食いして蟠桃会をめちゃくちゃにしてしまったお話は有名である。

蒸し暑くて食欲が落ちた時にミョウガを刻んで食卓にのせると食が進む。夏ミョウガの旬は梅雨入り頃から夏の初めまでの2カ月ほどで、漢方では「清熱解毒」の薬効があるとされている。また、爽やかな辛みの成分であるミョウガジアルは血液をサラサラにし、香気成分のガラナールには癌細胞を自滅させる働きがある。200種類以上の成分が作るミョウガの芳香にはリラックス効果が報告されている。今回は、こ

うしたミョウガにちなんだお話を紹介する。

【茗荷宿（みょうがやど）】

大津の宿場町の外れたところに一軒ポツーンと宿屋さんがございました。そういう立地条件なので客さんもなかなかお泊りにならないという事で、閑古鳥が鳴いているわけでございますが……。そんなわけで宿屋の夫婦ともなりますと、朝から喧嘩が絶えんわけでございます。

女将：ちょっとあんた、うちは何でお客さんが来ないの？

主人：何でお客さんが来ないかって、それが判ったら苦労するかい。

女将：私がここへ嫁いでからというもん、お客さんはホンのわずかやないか。悪いけど、私はこれまでに泊まったお客さんの顔を全部覚えてるし。

主人：へえー、お前なかなか賢いなあ。

女将：アホか、それだけお客さんが少ないと言ってんねやがな。

客：ごめんなはれや。

主人：おい、誰ぞが来はったぞ。お前ちょっと見てこい。

女将：はい、どなた？

客：あのお、ここ宿屋さんですよ？

女将：そおです……。お客さんは誰も居てませんけども、正真正銘うちは宿屋です。えらい悪おましたなあ。

客：いやいや、私はここへ泊めてもらおと思って寄して貰ったんですがなあ。

女将：えッ、泊まりたい？ ああ、お客さんでございましたか。

主人：どうぞおあがり下さい。しかしよくもこんな辺鄙な宿にお泊りで。

客：いやいや、私は賑やかなのが嫌いでああ、どおも気が休まらん。こうした静かなところでゆっくりさせて貰うのが一番よろしい。

主人：それでしたら、うちは静かでございます。

夜になるとシーンとなりましてな、裏の畑で蛙が寝返りを打つ音まで聞こえるぐらいでございますから。

客：今日はここでゆっくりさしてもらうことに……。そおじゃ、忘れておった。えろおすいませんがなあ、この財布を帳場の方で預かったといて貰いたい。私はなあ、長浜の縮緬問屋の商人でな、掛けを集めておりますその帰りでしてな。まあ二百両はあるやろうと思う。

主人：二百両……。帳場の方でしっかりとお預かりさせていただきます。

主人が帳場に戻ると、女将に財布を渡す。

女将：二百両も有ったらこの宿屋も建て替えてできるし、着物も買えるし……。

主人：おい、ちょっと待て。お前、おかしな料簡起こすんやないで。

女将：おかしな料簡て、何なの？

主人：つまりお前、そのお金を盗むとか、あのお客さんの命狙うとか。

女将：そんなことしたら手が後ろへ回るやないか。しかし、あのお客さんがこのお金預けたこと忘れたらどないなる？

主人：そんなもんお前、二百両てな大金忘れるか？

女将：良いこと思い付いた。うちの裏の畑に沢山茗荷が生えたやろ。

主人：確かにぎょーさん生えてるけど、それが

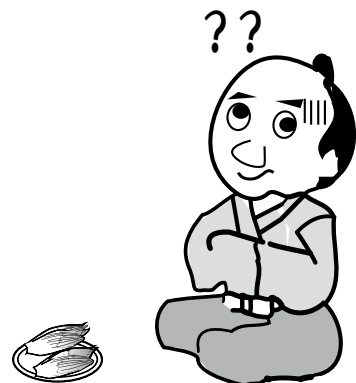


図3 茗荷宿

どないしてん？

女将：あんた知らんか？ 昔から“茗荷を食べたら物忘れする”って。

主人：よし、さっそく食べさせてみよう。

こうしてその夜は、お汁もミョウガ、おかずもミョウガ、なにもかもミョウガづくしの料理を作って出した。さあ、お客のほうはびっくり。

客：こんなにミョウガだらけのおかずでは、たまらぬわ。

次の朝早くお客は宿屋を出て行こうとして、

客：ご主人、いやいや肝心なことを忘れておった。預かって貰っていた二百両を出して貰えますか。

主人：そおでした、うっかりしとりました。えらい済みませんでしたな。

おい女将、預かってた財布持っといで……、えらい済んまへんなあ……

客：これを忘れたらえらいことじゃった、おお

きに。

主人：お気を付けて……。やっぱりうまいこといかなかったなあ。

女将：ホンマやなあ、あれだけぎょーさんミョウガを食べさしたのに。

主人：いや……、ちゃんと効いてるで。

女将：何、忘れていかはったんや？

主人：あのお客さん、かんじんかなめの宿賃を払うの忘れていかはったがな。

茗荷：ショウガ科の多年草。日本では本州以西で各地に自生し、古くからインドや中国にも野生種はあるが、野菜として栽培しているのは日本だけ。葉は広披針形。夏、地下茎の先から花序が出、淡赤褐色の苞片が多数重なって卵形となり、苞の間から淡黄色の花が次々とする。独特の香りがあり、開花前の苞と若い茎を食用とする。

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

- 1) 中医学の基礎 平馬直樹・兵頭明・路京華・劉公望監訳 東洋学術出版社
- 2) やさしい中医学入門 関口善太著 東洋学術出版社
- 3) 中医診断学ノート 内山恵子著 東洋学術出版社
- 4) 東洋医学の基本 後藤修司監修 日本実業出版社
- 5) 薬膳と中医学 徳井教孝・三成由美・張再良・郭忻共著 建帛社
- 6) 全訳中医診断学 王憶勤主編 たにぐち書店
- 7) 漢方アドバイザー養成講座テキスト 漢方に関する基礎知識編 第二巻 JACDS
- 8) 中国茶譜 宛曉春主編 中国林業出版社
- 9) 中国茶図鑑 工藤佳治、俞向紅著 文藝春秋
- 10) 皇帝内経 養生図典 海豚出版社
- 11) 一天一道養生茶 上海科学普及出版社

築地市場魚貝辞典（シシャモ）

厳しい暑さもようやくひと段落して、風も心なしか涼しさを取り戻してくる頃、築地市場のなかにもトンボが群れ飛ぶことがある。あわただしく出入りするトラックやターレットの間を飛んでいるのを見ていると、いつもの築地ではないような錯覚を覚える。東京の



シシャモ

真ん中でも、まだトンボがいるんだなあと感心しながら市場の中へ。初物のサンマやサケが並ぶようになり、いよいよ秋である。今回は秋の魚、シシャモを紹介する。

一分類一

シシャモを分類学的に表すとキュウリウオ目 - キュウリウオ科 - シシャモ属 - シシャモとなる。簡単にいうと、魚らしい形をした魚のうち、脂鰭（あぶらびれ）があり、小さいがしっかりした犬歯がある魚（キュウリウオ目キュウリウオ科）のうち、臀鰭（しりびれ）が大きくその縁が弧を描くようになっていて、鱗が細かくない（鰓蓋の後ろから尾鰭の付け根までの1列に並ぶ鱗の枚数が59枚から70枚。それでも細かいように見えるが、さらに細かい鱗を持つ魚がいる）魚ということになる。キュウリウオ科に最も近いのはアユ科である。アユは、歯が岩に付いた藻を食べる櫛状になっているほかは、キュウリウオ科の魚と違うところが少ない。研究者の間でも、アユをキュウリウオ科に含めた人もいたほどである。ほかにサケ科とシラウオ科も近縁で、どの魚も尾鰭に近い背中に小さな



臀鰭と脂鰭

脂鰭がある。キュウリウオ科は世界で7属13種が知られている。北半球の温帯から寒帯の河川や湖沼、海にすむ。キュウリウオ科のうち日本には4属6種が分布する。キュウリウオ科の化石記録は少なく、起源ははっきりしない。鳥取県からおよそ1500万年前（中新世中期）のシシャモの仲間の化石が見つかった。ミヤノシタシシャモと名づけられたこの化石を見ると、現代のシシャモによく似ている。シシャモ属のほかカラフトシシャモ属、キュウリウオ属、ワカサギ属がある。カラフトシシャモ属には北海道以北に分布するカラフトシシャモ1種、キュウリウオ属には北海道以北に分布するキュウリウオ1種、ワカサギ属には北海道から本州に分布するワカサギやチカなど3種が含まれる。シシャモ属はシシャモ1種だけである。

一形態一

シシャモも丸のままの姿で売られる魚の一つである。といっても売られているものは干物に限られ、生を見たことのある人は少ないかもしれない。丸のまま売られていても、いつも頭から丸かじりで姿など覚えていないという方のために、シシャモの体のおさらいをしよう。体はやや細長く、体の断面はやや縦長である。頭部は小さく、全長のおよそ1/4である。口はやや小さく、後端は眼の直下にとどく程度。口内には小さいがとがった歯が並んでいる。胸鰭は体の腹側にある。腹鰭は体の中央付近にある。背鰭は1つで体の中央にある。尾鰭に近い背中側には小さな脂鰭（あぶらびれ）がある。尾鰭は中央付近の鰭条（きじょう；ひれすじ）が短いので、その部分がくぼんで見える。雄の臀鰭（しりびれ）は雌に比べて大きく、扇状に広がる。脂鰭を除く鰭は柔軟性のある鰭条（なんじょう；ひれすじ）で支えられ、しなやかである。鱗は小さく、鰓蓋（さいがい；えらぶた）の後ろから尾鰭の前までに一列に並んだ鱗の枚数は59から70枚。

体色は、背中側は黄色がかった褐色で、腹側は白い。繁殖期になると全体が黒ずむ。長は12cmほどになる。

一生態一

シシャモは世界でも日本にしか分布しない日本固有種である。知名度からすると広く分布しているように思われるが、分布範囲は北海道の太平洋沿岸にのみに限られている。沿岸に住み、ゴカイや小型の甲殻類などを食べる。産卵期は10月から11月で、群れで川を遡り、ペアを作って産卵する。直径1.5mmの付着性の卵を9千から1万5千粒ほど産む。雄は産卵行動の後死んでしまうが、1歳の雌は産卵後に海へ下り翌年にも産卵する。卵は川底の砂粒などに付着し、翌年の4月

から5月に孵化する。孵化した仔魚はすぐに海へ下る。半年で6から7cm, 1年目の秋には11から14cmに成長し、産卵する。まれに3歳で体長18cmになるものも見られる。

―漁業―

岸に近い沿岸に住むので、船で網を曳いて群れを捕らえる桁網(けたあみ)で漁獲される。以前は産卵のために川に遡ってくる群れを捕っていたが、現在では行われていない。また資源を維持するため、漁期などの資源管理が行われている。人工孵化した稚魚の放流は行われているが、養殖は行われていない。また日本の固有種(日本以外には分布しない)なので輸入は無い。

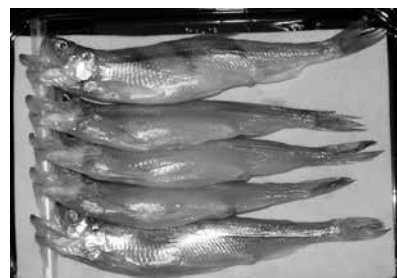
築地市場には、干物または鮮魚で入荷する。鮮魚は鮮度低下が早いので、築地に入荷する量も限られている。



鮮魚で入荷

―利用―

シシャモは身が柔らかく脂も多いので、鮮度低下が早い。そのため、一般に目にすることのできるシシャモといえば、干物がほとんどであろう。新鮮なうちに適度に干されたシシャモはしっとりとして柔らかく、頭から難なく食べられる。味も良いので、雄で子を持つ



干物

ていなくても美味しい。もちろん、子持ちの雌の食感も捨てがたい。生のシシャモであれば、新鮮なものであれば刺身でも食べられる。そのほか塩焼き甘露煮、フライ、燻製などが一般的な食べ方である。

シシャモの産卵期は秋である。産卵を控え腹に卵をたっぷりと抱えた雌の漁獲される秋が旬といえるだろう。

―エピソード―

店先で売られている“ししゃも”に、2種類あるのをお気づきだろうか。1つはここで紹介した、日本の固有種であるシシャモ。もう一

つはシシャモの代用ともいうべきカラフトシシャモである。カラフトシシャモは、シシャモと同じキュウリウオ科の魚で、体の特徴の違いからカラフトシシャモ属に分け



カラフトシシャモ

られている。シシャモとのいちばんの違いは、鱗の大きさである。分類の項でシシャモの特徴として鱗が細かくないと言った。というのは、このカラフトシシャモの鱗はさらに細かいからである。体の側面に一列に並んだ鱗の数がシシャモでは 59 から 70 枚であるのに対して、カラフトシシャモではなんと 170 から 220 枚もあるのである。干物をもう一度良く見ていただきたい。シシャモは背中側に鱗の跡が網目のように残って見える。ところがカラフトシシャモは鱗が細かすぎて、網目状の模様は見えない。そんな見た目の違いのほか、カラフトシシャモは北海道だけではなく太平洋から北極海を通して大西洋までの寒冷海域に広く分布していることも異なる。その広い分布からカナダやノルウェーでも大量に漁獲され、日本へ輸入される。生産量の限られたシシャモを補う形で輸入され、いつの間にかこちらがシシャモだと思われるほどに普及した。一昔以上前のある日、シシャモとして流通している魚の多くはシシャモではなくてカラフトシシャモだという話をしたところ、さる業者の方からお叱りを受けたことがある。現在では、量販店に並ぶ“ししゃも”のパッケージの裏側に貼られたラベルを見ると、ちゃんとカラフトシシャモと表示されているのを見ると、感慨もひとしおである。名前や種類が違っていったって美味しければいいじゃないか、と思うのは少数派なのかもしれない。

文 献

- 1) 上野輝彌・坂本一男：新版 魚の分類の図鑑，東海大学出版会（2005）
- 2) 中坊徹次（編・著）：日本産魚類検索 全種の同定 第2版，東海大学出版会（2000）
- 3) 水島敏博・鳥澤 雅（監）：新 北のさかなたち，北海道新聞社（2003）

研究の成果をまとめた論文集

ゼミや講演などのテキスト

研究会や学会などの抄録

行事などの記念出版

人生の節目の記録

還暦や退官などの記念出版

会報・グループ研究誌

随筆・作品集

あなたの思いや、
研究の成果、人生史を
カタチにしてみませんか？

あなたの思いや、研究の成果などを、
伝え残すため、また、情報発信として、
本をしたためてみては如何でしょうか。
今年創刊から 53 年の、
「NEW FOOD INDUSTRY」の編集スタッフが
長年のノウハウを活かし、お手伝いいたします。
出版しました本を、
全国の一般書店で販売することも可能です。

出版についての経費や納期につきましてはご相談の上お見積もり、スケジュール作成させていただきます。書店流通につきましては相談の上、対応可能かどうか判断させていただきます。

共同出版・自費出版の
お手伝いをいたします。

お申し込み・お問い合わせは、
FAX・お電話・メールにて

電話：03-3254-9191 FAX：03-3256-9559
eMAIL：info@newfoodindustry.com

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)

月刊 ニューフードインダストリー

NEW FOOD INDUSTRY

定期購読の
ご案内

月刊「ニューフードインダストリー」は創刊54年の食品業界誌です。

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

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

年間購読料：**23,760**円（送料・税込）

お申し込み・お問い合わせは下記 FAX かお電話で

電話：**03-3254-9191** 担当：村松

FAX：03-3256-9559

ニューフードインダストリー年間購読申込用紙

住所 〒

氏名

会社名・所属

電話

FAX

E-mail

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

ニューフードインダストリー 第54巻 第11号

印刷 平成24年 10月25日

発行 平成24年 10月1日

発行人 宇田 守孝

編集人 村松 右一

発行所 株式会社食品資材研究会

〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10(共同ビル新神田)

TEL:03-3254-9191(代表)

FAX:03-3256-9559

振込先:三菱東京UFJ銀行 京橋支店(普通)0070318

三井住友銀行 日本橋支店(当座)6551432

郵便振替口座 00110-6-62663

印刷所 株式会社アイエムアート

定価 2,100円(本体2,000円+税)(送料100円)

email:info@newfoodindustry.com