

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2013 Vol.55 No.4

4

論 説

- 抗酸化栄養素の虚血性脳卒中に対する予防効果
- 食成分と健康長寿
—レスベラトロールの研究結果を中心に—
- 紅麹が有する強力な血栓溶解活性
—新しい基質特異性とその応用面について—
- 糖類の抗炎症作用
- 組成や形状の異なる塩を用いて製造した発酵ソーセージの品質特性,
特にスターター菌の違いについて
- 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (9)
—現代の日本人でも安心できない回虫の感染 (ノート) —

連 載

- ニジマスの親魚用飼料— 1
- “緑茶飲料市場”を創造した驚くべきヒット商品
—『お〜いお茶』株式会社伊藤園—
- “薬膳”の知恵 (75)
- 築地市場魚貝辞典 (サクラマス)

News Release

- 新規機能性糖質素材「多分岐グルカン」に肝臓への脂肪蓄積抑制効果などを確認
—世界のメタボリックシンドローム予防に新たな光—



論 説

- 抗酸化栄養素の虚血性脳卒中に対する予防効果
..... 山形 一雄 1

- 食成分と健康長寿
ーレスベラトロールの研究結果を中心にー
..... 早田 邦康 14

- 紅麹が有する強力な血栓溶解活性
ー新しい基質特異性とその応用面についてー
..... 須見 洋行, 内藤 佐和, 矢田貝 智恵子, 大杉 忠則,
柳澤 泰任, 岡田 幸子, 今井 雅敏, 丸山 眞杉 21

- 糖類の抗炎症作用
..... 芳野 恭士 25

- 組成や形状の異なる塩を用いて製造した発酵ソーセージの
品質特性, 特にスターター菌の違いについて
..... 船津 保浩, 川上 誠, 徳山 武宏, 酒井 彩,
谷口 亮輔, 岩崎 智仁, 石下 真人, 山本 克博 34

- 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (9)
ー現代の日本人でも安心できない回虫の感染 (ノート) ー
..... 牧 純, 関谷 洋志, 田邊 知孝, 舟橋 達也, 玉井 栄治, 河瀬 雅美, 坂上 宏 43

Contents

2013 年 4 月号

連 載

□ ニジマスの親魚用飼料－ 1

..... 酒本 秀一 50

□ “ 緑茶飲料市場 ” を創造した驚くべきヒット商品 － 『お〜いお茶』株式会社伊藤園－

..... 田形 暁作 61

□ “ 薬膳 ” の知恵 (75)

..... 荒 勝俊 71

□ 築地市場魚貝辞典 (サクラマス)

..... 山田 和彦 76

News Release

□ 新規機能性糖質素材「多分岐グルカン」に肝臓への脂肪蓄積抑制効果などを確認 －世界のメタボリックシンドローム予防に新たな光－

..... 株式会社林原 前付広告 P 6

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

ゼラチン&小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベス
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
特長がある乳糖酵母エキスです。

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

抗酸化栄養素の虚血性脳卒中に対する予防効果

山形 一雄 (YAMAGATA Kazuo) *

* 日本大学 生物資源科学部 食品生命学科 食品健康解析学 (兼任, 日本大学 生物資源科学部 先端食機能研究センター)

Key Words : 脳卒中ラット・神経細胞・ビタミン E・カロテノイド・フラボノイド・ポリフェノール

はじめに

脳卒中は、脳梗塞、脳出血およびクモ膜下出血といった脳血管疾患の総称で死亡率の高い病気として知られている。脳卒中を煩った生存者の多くは深刻な後遺症で苦しみ、正常な身体機能を取り戻すことも難しいことから怖い病気とされている。虚血性脳卒中と言った場合、脳に血栓を伴い血管が詰まり脳が血流不足に陥り、神経障害をもたらす病態のことを言う場合が多い。これまで、脳梗塞後の再酸素化で産生される大量の活性酸素種 (ROS) が神経細胞の細胞死を誘導する引き金になることが判明している¹⁾。

脳卒中ラット (SHRSP) は、高血圧になりやすい遺伝素因を持ったウイスター系ラット (WKY) を何世代も交配させて作り出された高血圧ラット (SHR) から、さらに脳卒中になりやすい遺伝素因を持ったラットから作り出された。SHRSP はヒトで見られるように、加齢に伴って、血圧も上昇して 95% 以上が脳卒中で死亡する極めてユニークなヒト脳卒中のモデル動物である²⁾。SHRSP は、脳卒中が血圧上昇の後に発症するので、高血圧が脳卒中誘導のための最も重要なリスク因子であり、高血圧に関連した各種疾患を引き起こすことが解明されている³⁾。これら特性から、SHRSP は脳卒中

の研究に欠かせないモデル動物で世界の国々で広く使用されている。SHRSP は、脳卒中状態で正常対象ラットの WKY に比較して大量の神経伝達物質を放出⁴⁾して遅発性神経細胞を誘発⁵⁾する特性を有することから、特に虚血性神経障害を有する虚血性脳卒中モデルとして珍重されている。

SHRSP を使用した研究からナトリウムの制限、カリウム補給、タンパク質、アミノ酸や脂肪および食物繊維のような食事成分を調節することにより脳卒中の発症を阻止・予防できる可能性が確かめられている⁶⁾。特に食品に含まれるビタミン E、ビタミン C、カロチノイドおよびポリフェノールなどの抗酸化栄養素は、循環器疾患とそのリスクを予防する成分として注目されていることから、SHRSP で起こる脳卒中の発症に対しても予防作用を示すことが期待されている⁷⁾。実際、SHRSP の中大動脈脳梗塞モデルを用いて抗酸化栄養素の予防作用が示されている。例えば、ビタミン E やカロテノイドのアスタキサンチンが SHRSP で誘発される血圧上昇や血栓形成に対して阻止・抑制作用を示すことが報告されている⁸⁾。また、同様に SHRSP の中大脳動脈梗塞モデルにおいて、ビタミン C とビタミン E が脳梗塞で発生するフ

リーラジカルを消去(抗酸化作用)し、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)などの抗酸化タンパク質の発現を増加させるなどして阻止することが明らかにされている⁹⁾。これら抗酸化栄養成分の作用の解析から、酸化ストレスがSHRSPの脳卒中発症におけるメディエーターとなることを示し、同時に、食品に含まれる抗酸化栄養素がこれらSHRSPでおこる酸化ストレスを改善して脳卒中を予防する可能性を強く示唆する。本稿では我々が行ってきたSHRSPの神経細胞とアストロサイトの脳卒中の発症に関連した細胞特性とビタミンEの予防作用に関する知見を中心に示す。また、他の抗酸化栄養素を含め虚血性脳卒中予防作用についても紹介したい。

1. 虚血性脳卒中のモデル動物、脳卒中ラットの神経細胞死の特徴

SHRSPは、150 mmHg以上の高血圧を伴って脳卒中を発症するヒトの脳卒中モデルである。特に、脳虚血状態で正常対照ラットであるWKYに比較して大量のグルタミン酸を放出して強く遅発性神経細胞死を誘導する^{4,10)}。これまで、我々はSHRSPの神経細胞が、低酸素後の再酸素化状態(H/R)でWKYに比較して強く脆弱性を示すことを*in vivo*¹¹⁾および*in vitro*^{12,13)}の解析から明らかにしてきた。SHRSPは、これらの神経細胞の脆弱性に加え、虚血後の再還流における脳CA1とCA4領域のアストロサイトでMCP-1のmRNAの発現が増加することが判明している¹⁴⁾。また、TNF α で刺激した培養アストロサイトのVCAM-1やMCP-1の遺伝子発現がWKYに比べSHRSPで増加していることが示されている¹⁵⁾。これら知見は、SHRSPの神経細胞とアストロサイトで種々のWKYと異なる特徴を有することを示す。特に神経細胞の脆弱性およびアストロサ

イトのMCP-1などの接着分子の発現の増加は、SHRSPで起こる遅発性神経細胞死の誘発を強く促進することから脳卒中発症の重要な要因となりうると考えられる。

2. 脳卒中状態で(再酸素刺激)誘発されるフリーラジカル産生とSHRSP由来神経細胞の脆弱性

脳虚血後の酸素再灌流の最初の数分後に産生されるフリーラジカルが細胞損傷の引き金となる¹⁶⁾。キサンチンオキシダーゼ(XOD)によるフリーラジカル産生は脳卒中による神経障害の初期イベントとして重要な役割を担うと考えられる。すなわち、脳虚血刺激により細胞内のカルシウムイオンが急増し、カルシウム依存性プロテアーゼによりキサンチンデヒドロゲナーゼ(XDH)がXODに変換される¹⁷⁻¹⁹⁾。このXODはキサンチンを尿酸に酸化させる酵素で、その酸化の際にスーパーオキシドアニオンラジカル(O²⁻)が産生される¹⁹⁾。低酸素後の再酸素化の刺激がこれらROSの産生を強く促進する要因として考えられる。

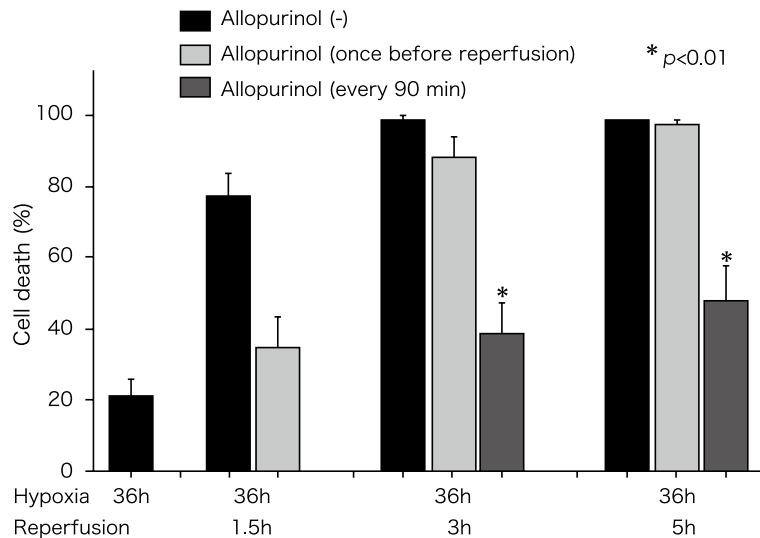
我々は、SHRSPおよびWKYの胎生15日の脳から分離した神経細胞を1%酸素濃度(低酸素)で培養し、さらに通常の酸素濃度である21%酸素濃度に戻した条件(再酸素状態)で培養し神経細胞死の程度を検討した¹²⁾。その結果、低酸素状態で24時間培養した時の神経細胞の細胞死はWKYおよびSHRSPの両系統で共に確認される誘導されなかった(表1)。しかし、低酸素の時間を36時間と長くすると、SHRSPから分離培養した神経細胞のみ細胞死が顕著に誘導され、その細胞死のほとんどがアポトーシスであることを形態学的検討から明らかにした。我々はさらに、低酸素に加えた再酸素化状態でWKYと異なりSHRSPの神経細胞死が強く誘導されることを示した¹²⁾。表1で示すように、低酸素刺激に加えた1.5時間の再

表1 脳卒中ラット由来神経細胞の虚血性細胞死の誘導とビタミンEによる予防

培養条件*	系統	生存細胞 (%)		死細胞 (%)		
		ビタミンE (+)**	ビタミンE (-)	全数	ネクロシス	アポトーシス
低酸素 24 h	WKY	95	94			5
	SHRSP	93	95			7
低酸素 36 h	WKY	96	92			8
	SHRSP	93	79			21
低酸素 36 h + 再酸素 1.5 h	WKY	90	59	41	12	29
	SHRSP	91	22	78	15	63
低酸素 36 h + 再酸素 3 h	WKY	89	32	68	38	30
	SHRSP	90	1	99	55	44
低酸素 36 h + 再酸素 5 h	WKY	89		100	52	48
	SHRSP	88		100	58	42

* h, 時間; ** ビタミンE添加量 100 µg/ml

(文献12)のデータを改変)

図1 脳卒中ラット由来神経細胞の虚血性細胞死に対するアロプリノールの影響¹²⁾

酸素条件でWKYの細胞死の割合は41% (壊死=12%, アポトーシス=29%), SHRSPでは78% (壊死=15%, アポトーシス=63%)であった。

再酸素刺激を3時間にするとWKYの細胞死は68%, SHRSPに至っては、ほとんどすべての細胞(99%)が死滅した。また、TUNEL法によるDNAの断片化の検討でも、SHRSPは通常の酸素濃度(21%酸素)では、ほとんどのDNAに断片化が起こらないが、36時間の低酸素とそれに加えた3時間の再酸素条件で強

くDNAの断片化が誘導・促進されることを確認した。このDNAの断片化が誘導されているSHRSPの神経細胞は、特に脂質小滴を多く含むことが特徴となりうることを突き止めた¹²⁾。また、SHRSP由来の神経細胞死に対するキサンチンオキシダーゼ阻害薬、アロプリノールの影響を検討した結果、アロプリノール添加で低酸素後の再酸素化で誘導される神経細胞死を著しく阻止することを示した(図1)。加えて、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)を同様添加

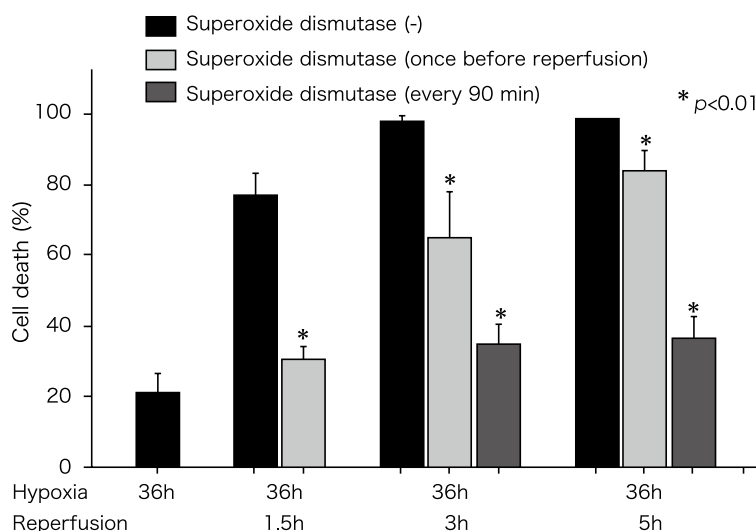


図2 脳卒中ラット由来神経細胞の虚血性細胞死に対するSODの影響¹²⁾

して、低酸素後の再酸素化で誘導される神経細胞死の影響について検討した。図2に示すようにSOD添加でSHRSPの神経細胞死がほぼ完全に阻止された。以上の結果から、低酸素後の再酸素化で誘導される神経細胞死の原因が酸化酵素の作用による酸化ストレスであることが証明された。

3. 脳卒中刺激によるSHRSPの神経細胞におけるチオレドキシンおよびBcl-2の発現

SHRSPの神経細胞は虚血後の再灌流で強くアポトーシスが誘導されるが、我々は、このような時の神経細胞におけるミトコンドリアのレドックス調節が重要であると考え、ミトコンドリアに局在するチオレドキシンII (Trx II) とアポトーシスの誘導を阻止するBcl-2の発現を検討した²⁰⁾。図3Aで示すように、SHRSPから分離・培養した神経細胞は、低酸素後の30分間の再酸素刺激でBcl-2の遺伝子発現がWKYに比べ有意に減少していた。この減少したBcl-2の発現は、ミトコンドリアからのチトクロームCの放出を強く誘導し、さらにカスパー

ゼの活性を増強し、アポトーシスを誘導する可能性が高いと考えた²¹⁾。また、低酸素後の30分間の再酸素刺激において、Trx IIとチトクロームc酸化酵素サブユニットIII (CO III)の遺伝子発現もBcl-2と同様にSHRSP由来の神経細胞で有為に低下していた(図3C, D)。Trx IIは、分子内にSH基を持つ抗酸化酵素で、酸化ストレス/活性酸素からの保護作用を示す。また、細胞内シグナル伝達にも関与する多機能タンパク質として知られている。CO IIIは、ミトコンドリアにおいてチトクロームc酸化酵素の主要な膜貫通サブユニットのうちの1つとしてATPを介したエネルギー代謝に関係して機能することが知られている。

ミトコンドリアにおいて、産生されたフリーラジカルによる傷害をミトコンドリア存在のBcl-2と蓄積されたビタミンEとが防御する役割を担う可能性が示唆される²²⁾。従ってSHRSP由来の神経細胞におけるTrx II, Bcl-2およびCO IIIの遺伝子発現の減少は、再酸素刺激におけるミトコンドリアでの酸化ストレスの誘導、アポトーシスの誘導およびエネルギー代謝の低下を引きこす可能性が高い。こ

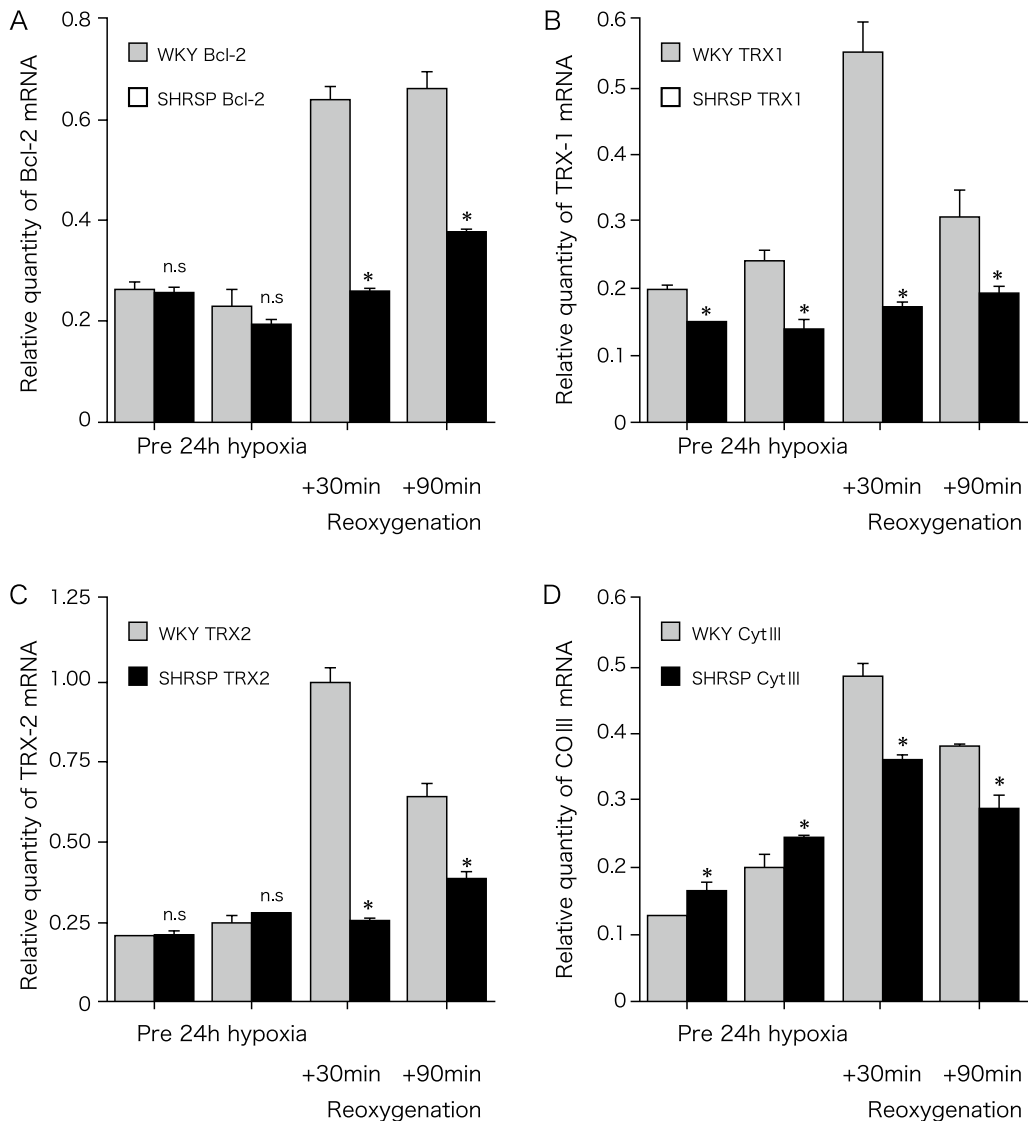


図3 脳卒中ラット由来神経細胞のTRXおよびBcl-2などの遺伝子発現²⁰⁾

れらWKYと異なるSHRSPの変化がSHRSPの神経細胞の脆弱性と直接関係するかもしれない。もし、抗酸化栄養素が産生された酸化ストレスを消去し同時に、TrxII, Bcl-2およびCOIIIなどの遺伝子発現を誘導する作用がさらに詳細に明らかにされれば、抗酸化栄養素の神経保護に対する機構が、よりいっそう明確になると思われる。

4. 脳卒中刺激によるSHRSPのアストロサイトの変異

脳病巣において反応性アストロサイトの数が増加することが知られている。これらの反応性アストロサイトは正常時と異なり増殖性や分裂能が亢進した細胞特性を獲得して脳損傷に対する防御反応の一つとしても考えられているが、脳障害の増悪にも強く貢献する。

Tagami ら^{23,24)} は SHRSP が脳卒中状態で WKY と比較して強い反応性を獲得して反応性アストロサイトになり易く、その結果、WKY に比べ強い浮腫性変性を生じることを形態的に明らかにしていた。これらアストロサイトの脳卒中に関連した変化や変性が SHRSP の脳卒中発生に関与するかを明らかにするため、我々は培養アストロサイトを使用した研究を開始した。

まず、血圧に作用されない環境で SHRSP の特性を検討するため、胎児由来のアストロサイトを使用することとした。すなわち、SHRSP の胎児脳から脳組織を分離して酵素処理後、培養後、GFAP 染色 98% 以上の細胞をアストロサイトとして同定し培養して、WKY の増殖能と比較した。SHRSP から分離・培養したアストロサイトは、WKY に比べ 10% FBS 存在下で有意に増殖能が亢進していることを明らかにした²⁵⁾。

SHRSP のアストロサイトにおける高い増殖性は傷害発生に過剰に反応し、典型的な反応性アストロサイトとなり脳浮腫性変性を誘導する可能性が高い。ラット脳一過的脳虚血モデルにおいて反応性アストロサイトにおける EGF のレセプターを介した細胞情報機構の重要性が指摘されている²⁶⁾。詳細は不明だが、SHRSP のアストロサイトの細胞特性が EGF などの細胞分裂機構の変異を介し脳虚血における脳血管病変の発生や進展に関与するかもしれない。SHRSP の末梢血管平滑筋細胞でもアストロサイト同様増殖能が高い。血圧上昇とともに、この血管平滑筋の増殖性が血清中の因子に強く刺激され過剰増殖した結果、血管病変に至る機構が推察される。血管平滑筋細胞と同様、アストロサイトの増強された増殖能は SHRSP 特有の細胞特性であるかもしれない。

高血圧により動脈病変が進行した類繊維素変性を起こした部位では内皮細胞間および内

皮細胞自体のバリアー機能が減弱し、その破綻部位から血しょう成分が侵入する。SHRSP は血圧の上昇とともに中膜平滑筋細胞の変性や壊死をおこし、穿通枝動脈の血液脳関門が破壊する²⁷⁾。我々は SHRSP のアストロサイトの血管内皮細胞に対するバリアー機能誘導能の減弱の可能性を *in vitro* の血液脳関門の簡単なモデル系を使用して検討した²⁸⁾。その結果、SHRSP 由来アストロサイトは WKY に比べ強く血管内皮細胞のバリアー機能の誘導作用が限弱する可能性が判明した。WKY に比較して SHRSP のバリアー機能低下の原因として、アストロサイト由来の液性因子の違いが関与している可能性が高い²⁹⁾。

神経細胞より放出されるグルタミン酸は、伝達物質として神経末端に作用する。同時にグルタミン酸は、アストロサイトを刺激する。また、アストロサイトに存在するグルタミン酸トランスポーターを介して神経末端から放出されたグルタミン酸はアストロサイトの細胞内に取り込まれる。アストロサイトにおいて、グルタミン酸の取り込みは N+/K+ ATPase 活性やグルコースの取り込みを活発にして、アストロサイト内での代謝を促進し乳酸産生を増加させる³⁰⁾。アストロサイトで産生された乳酸は神経細胞に供給され、ATP 産生の原料になり、神経細胞でエネルギー源として利用される³¹⁾。このアストロサイトから神経細胞への乳酸の供給は、虚血後の神経細胞の機能回復において特に重要と考えられている³²⁾。

我々は培養アストロサイトを使用した実験において、低酸素刺激で SHRSP 産生される乳酸量が WKY と大きく異なっていることを明らかにした³³⁾。SHRSP のアストロサイトにおける乳酸産生の減少は SHRSP の神経細胞のエネルギー枯渇や低下を招く可能性があり神経細胞障害変性を惹起する要因の一つに成り得ると考えている。

5. ビタミン E の抗酸化効果

ビタミン E は疎水性で膜に局在し酸化防止効果を示す³⁴⁾。ビタミン E は一重項酸素 ($1O^2$) やヒドロキシルラジカル ($HO\cdot$) と反応できるが、ビタミン E の主要な酸化防止効果は活性酸素の一種、ペルオキシラジカル ($ROO\cdot$) とアルコキシルラジカル ($RO\cdot$) に速やか水素を付与し消去する作用である。このような作用機作で、ビタミン E は活性酸素代謝系のカスケードを阻止することから chain-breaking な酸化防止剤と言われている³⁵⁾。ビタミン E は活性酸素のレベルを減少させて脳神経細胞の障害を予防する可能性が高い。

6. 脳卒中状態での神経細胞障害に対するビタミン E の予防効果

ビタミン E がクメンヒドロペルオキシドで強く産生誘導される活性酸素による培養神経細胞の損傷に対して抑制効果を示すことが判明している³⁶⁾。また、PC12 細胞を使用した実験でグルタミン酸の添加で添加濃度に依存して神経細胞障害が誘発され、その神経障害に対して上皮成長因子 (EGF) とビタミン E が予防することが示されている³⁷⁾。これら結果は、神経細胞の増殖刺激や抗酸化剤がグルタミン酸などによる神経障害を阻止する可能性を示す。

我々は、これらビタミン E の結果から、ビタミン E が SHRSP 由来の神経細胞の損傷を予防できる可能性が強いと考え、脳卒中状態での神経細胞死に対するビタミン E の予防効果について調べることにした。特に、低酸素状態に続く再酸素化状態で誘発される酸化ストレス傷害に対する阻止作用に焦点を絞り、ビタミン E の保護効果を詳細に解析・検討した。その結果、ビタミン E が H/R で誘導される SHRSP の神経細胞障害を強く抑制する作用を有することを証明した^{11, 12)}。すなわち、36 時間低酸素および 1.5 ~ 5 時間再酸素化 (20% O_2) の条件で初代培養した WKY および SHRSP の神経細胞にそれぞれ

細胞の損傷に対して抑制効果を示すことが判明している³⁶⁾。また、PC12 細胞を使用した実験でグルタミン酸の添加で添加濃度に依存して神経細胞障害が誘発され、その神経障害に対して上皮成長因子 (EGF) とビタミン E が予防することが示されている³⁷⁾。これら結果は、神経細胞の増殖刺激や抗酸化剤がグルタミン酸などによる神経障害を阻止する可能性を示す。

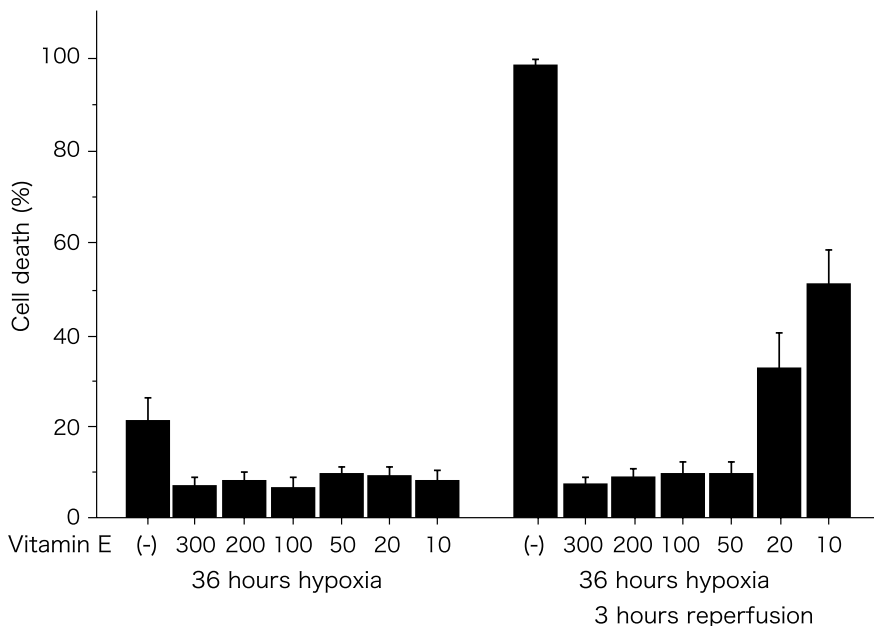


図4 脳卒中ラット由来神経細胞の虚血性細胞死に対するビタミン E の効果¹²⁾

れ、ビタミンEを加えた。低酸素(1%酸素濃度)と5時間の再酸素刺激による神経細胞の細胞死はWKYとSHRSPの細胞死は、100 $\mu\text{g/ml}$ のビタミンEの添加により、それぞれ11%、12%まで減少させた¹²⁾。さらに、同条件で、ビタミンEは10～50 $\mu\text{g/ml}$ の添加範囲で濃度依存的に細胞死を抑制した。高濃度の50～300 $\mu\text{g/ml}$ のビタミンEの添加範囲では、一致してほぼ完全に細胞死を阻止した。ビタミンEの濃度50, 20, 10 $\mu\text{g/ml}$ による細胞死の割合は、それぞれ10% (アポトーシス=10%), 33% (壊死=8%, アポトーシス=25%), および52% (壊死=15%, アポトーシス=37%)であった。36時間低酸素および3時間の再酸素条件において、神経細胞死の抑制作用は50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度のビタミンEが必要と考えられた(図4)。

MTT assayはミトコンドリアの糖代謝酵素によりテトラゾリウム塩であるMTTが還元され不溶性のホルマザン色素の呈することを利用して生細胞あるいは死細胞の判定に使用される。我々は、ミトコンドリアの損傷程度の確認のため、36時間低酸素に加えた3時間の再酸素条

件で培養した神経細胞についてMTT assayを使用して細胞死の程度を検討した。ビタミンE無添加群ではMTTで染色された生細胞の割合は5.8%であったが、ビタミンEを100 $\mu\text{g/ml}$ 添加した細胞では93.1%と高い染色割合を示し、ビタミンEの添加でミトコンドリアの損傷が抑制されることが判明した。また、ビタミンE100 $\mu\text{g/ml}$ 添加の時の電子顕微鏡の観察結果から、顕著にミトコンドリア、核、ゴルジ体および小胞体などのオルガネラの形態が良く維持されていることが確認された。これら結果からビタミンEが神経細胞の損傷程度を減少させることを証明した¹²⁾。

7. ビタミンEのミトコンドリアへの蓄積と神経細胞死予防作用の発現

ビタミンEは主に肝臓や心臓のミトコンドリアやミクロソームの細胞膜に濃縮されている。ミトコンドリアやミクロソームなどへのビタミンEの輸送はビタミンE結合タンパクにより行なわれ、神経細胞障害に対して予防する

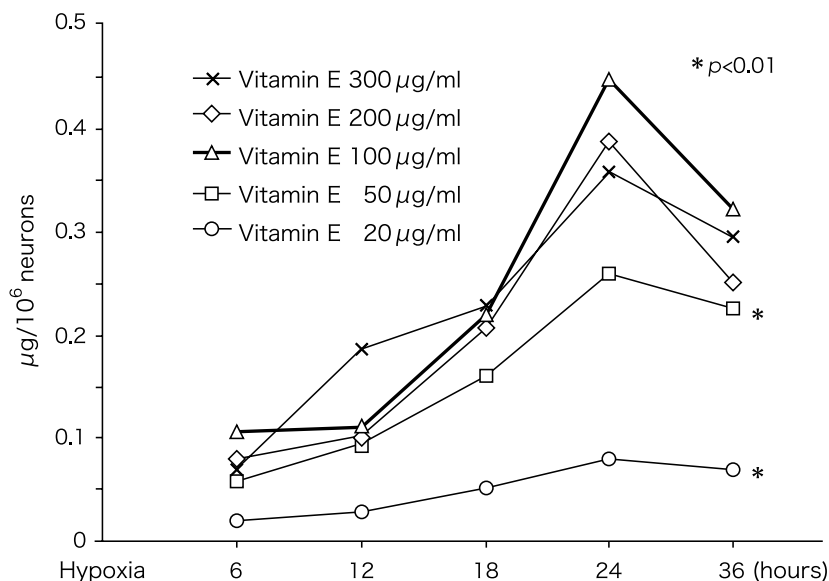


図5 脳卒中ラット由来神経細胞のミトコンドリアへのビタミンEの蓄積¹²⁾

ことが示されている³⁸⁾。この結果は、酸化ストレスに起因する神経損傷で神経細胞へのビタミンEの輸送やミトコンドリアでの存在量が変わる可能性が示唆される。

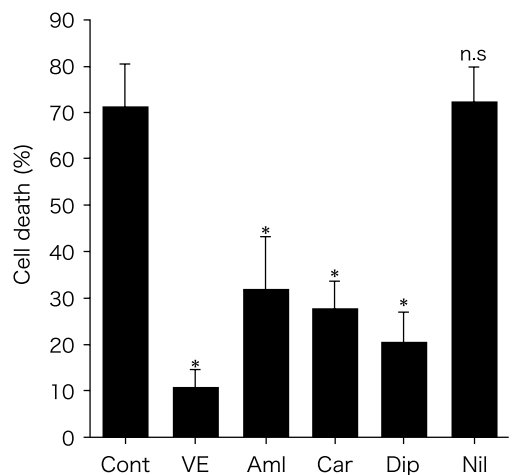
我々は、ビタミンE添加 (20 ~ 300 $\mu\text{g/ml}$) 後の神経細胞のミトコンドリアにおけるビタミンEの濃度をHPLCにて検討した。その結果、低酸素36時間後のビタミンEの蓄積レベルは、神経細胞のミトコンドリアにそれぞれの添加濃度で確認された (図5)。添加したビタミンE量により17% ~ 33%の範囲で神経細胞にビタミンEが蓄積されるのが確認された。そして、ビタミンE添加濃度が50 $\mu\text{g/ml}$ の時、最も効果的に神経細胞のミトコンドリアに取り込まれることも判明した。ビタミンEの取り込みレベルは、36時間の低酸素培養中にSHRSPの神経細胞は100万あたり0.24 μg であった¹²⁾。同時に、36時間の低酸素化プラス3時間の再酸素刺激で誘発される神経細胞死に対して、ビタミンEは50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で神経細胞傷害を阻止した。これら結果から、神経細胞100万あたり0.24 μg のビタミンEを添加することで、H/Rで誘導される神経細胞障害を阻止することが可能であることが示唆された。

8. ビタミンEおよび抗酸化性作用を有する降圧剤の神経細胞死に対する予防作用の比較

我々はビタミンEと抗酸化性作用および神経保護作用を持つ降圧剤と予防効果を比較した^{39, 40)}。すなわち、抗酸化作用が報告されているアムロジピン、カルベジロール、ジピリダモールおよび細胞保護効果が報告されているニバジピンとビタミンEの神経細胞死に対する予防効果を比較した (図6)。また、これら降圧剤とのビタミンEの併用効果についても検討した。H/Rで70%の細胞死が確認されたが、

アムロジピンの5 μM 添加でSHRSPの神経細胞死を31.4%まで抑制した。しかし、50 μM 以上の添加で毒性を示した。カルベジロールは、10 μM 添加で細胞死25%に抑制した。また、ジピリダモールも10 μM 添加で細胞死を20%に抑制した。一方、ニバジピンは、この条件では効果は無かった。一方、ビタミンEは、100 μM 添加でSHRSP由来の神経細胞死を10.6%まで抑制した。

アムロジピンおよびカルベジロールとビタミンEを併用すると、神経細胞死の割合が単独に比較してそれぞれ低値を示した。添加濃度は異なるが、細胞保護の最大効果はビタミンE > ジピリダモール \geq カルベジロール > アムロジピンの順番で現れた。これら結果は、高血圧患者の血管障害、神経障害に関連したROSをアムロジピンおよびカルベジロールが消去し神経細胞障害を予防する可能性を示す。また、ビタミンEはこれら薬剤との併用において血管障害や神経細胞障害の予防で極めて有効であることを示す。



VE; ビタミンE, Aml; アムロジピン, Car; カルベジロール, Dip; ジピリダモール, Nil; ニバジピン

図6 脳卒中ラット由来神経細胞の脳卒中状態での神経細胞死に対するビタミンEと降圧剤の予防効果の比較⁴⁰⁾

9. ビタミン E の *in vivo* での神経細胞障害に対する予防効果

グルタミン酸で誘発される神経細胞毒性に対しビタミン E やミトコンドリアのカルシウムユニポート阻害剤およびタンパク合成阻害剤の保護作用が示されている⁴¹⁾。グルタミン酸で誘導される神経細胞死において、活性酸素蓄積とグルタチオン枯渇を伴う場合が多い。この際、ビタミン E が活性酸素種の補捉を行い神経細胞に対して保護作用を担うことが明らかになっている⁴¹⁾。

我々は *in vivo* において、SHRSP に対するビタミン E の効果を検討した。すなわち、SHRSP の両側頸動脈を 30 分間クリップで結び、その後 6 日間の再灌流を行った。ビタミン E はエサに混ぜて投与した。そして、ビタミン E の大脳神経細胞のアポトーシスに対する効果を検討した。普通食で飼育した SHRSP の脳神経細胞は 1000 細胞あたり 542 個の神経細胞がアポトーシスを起こした。一方、高濃度ビタミン E 食で飼育した SHRSP の脳の神経細胞は 1000 細胞あたり 41 個と激減した¹²⁾。また、脳の虚血障害予防作用と降圧作用および抗酸化作用を有する治療薬、エブセレンが SHRSP の神経細胞のアポトーシスを予防することが解明された⁴²⁾。このエブセレンの強い予防作用は、抗酸化作用に加え Bcl-2 と Bax の発現を介して調節されることを突き止めた。ビタミン E が脳で発生したフリーラジカルにより惹起される神経傷害に対して効果的に作用する。この作用が、Bcl-2 と Bax の発現を介してアポトーシス阻止にどのように関与するか興味深い。

10. カロテノイドの虚血性脳卒中予防

カロテノイド類の健康効果が報告されている。この内、アスタキサンチンは、甲殻類と魚

にふくまれるカロテノイドで虚血性心疾患障害を削減することが示されている⁴³⁾。また、アスタキサンチンの虚血性神経細胞障害に対する予防作用も報告されている。マウス中大動脈脳閉塞モデルにおいて、アスタキサンチンを梗塞前に静注処理しておく、虚血状態で増加するグルタミン酸の産生を減少させ脂質過酸化レベルを低下させ、さらにチトクローム C のミトコンドリアからの放出および TUNEL 陽性細胞を減少させることが判明した⁴⁴⁾。これらアスタキサンチンの作用は、中大動脈脳閉塞で誘導される強い酸化性ストレスを低下させてアポトーシスを阻止することで虚血性神経障害を予防する可能性を示す。

また、ルテインはマウス虚血性脳卒中において神経細胞の生存を増強し神経障害を減少させることが報告されている。近年、Li ら⁴⁵⁾は、マウス中大動脈脳閉塞モデルとして 2 時間の脳虚血で誘発して再還流後の生存率と神経細胞死の程度を検討した。ルテイン (0.2 mg/Kg) 処置群でより高い生存率と神経細胞死抑制作用が確認された。脳組織の免疫組織化学的検討から、ルテイン処置により ADP リボースと NF- κ B の免疫活性の減少が確認された。また、ルテイン処置は、COX-2 の減少と Bcl-2 およびリン酸化 Akt のレベルを上昇させることも判明した。これら結果は、ルテインが抗アポトーシス作用や抗酸化作用および抗炎症作用を有することを示し、脳神経障害を阻止する可能性が示唆された。この結果や他の複数の知見から考えルテインは、ヒト脳卒中予防に貢献するかもしれない⁴⁵⁾。

11. フラボノイドの脳卒中予防

脳虚血後の再還流モデルにおいて、ナリンゲニンの前処理で梗塞サイズを減少させることが示されている。またナリンゲニンが NF- κ B の

発現, 酸化酵素のミエロペルオキシダーゼ, 一酸化窒素および再還流で誘発されるサイトカインレベルを低下させる作用を有することも示されている⁴⁶⁾。一方, マウス中大動脈脳閉塞モデルにおいて, 大豆イソフラボンのゲニステインが梗塞程度を減少させることが示されている。ゲニステインの作用は, 再還流後に増加した ROS 産生を減少させ, マロンアルデヒド形成を低下させた。また同時にゲニステインが酸化酵素のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD), グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) の活性を増強させる作用を有することが判明した⁴⁷⁾。さらに, ヘスペリジン, ヘスペリジンおよびナリンギンの SHRSP の血圧と脳血栓に関する効果が示されている。これらフラボノイドは, SHRSP に 4 週間投与することで, 増加した ROS 産生, 血圧上昇および血栓の形成を低下作用が示された⁴⁸⁾。これら結果から抗酸化成分が酸化ストレスの軽減, NF- κ B などの発現抑制などを介して血圧上昇および血栓形成などの抑制し, 間接的に脳卒中の発症を軽減する可能性が示唆される。

おわりに

SHRSP の神経細胞の脆弱性に加え, 低酸素後の再酸素で産生される ROS を介して神経細

胞死を惹起して脳卒中へと発展する可能性を示した。同時に, この虚血刺激で誘導される SHRSP の神経細胞死に対しビタミン E などの抗酸化栄養成分が阻止・予防できる可能性を紹介した。SHRSP の虚血ストレスで誘導される神経細胞死の予防にビタミン E がミトコンドリアでのレドックス調節を介して, 酸化カスケードで誘導される種々の神経細胞死に関するイベントを軽減して予防効果を発揮する可能性が示唆される。また, ビタミン E の効果の発現には, SHRSP の神経細胞が虚血刺激で強く脆弱性を発現する細胞特性に起因する可能性が高い。これらに加えて, 神経細胞障害におけるアストロサイトからの栄養供給が神経細胞障害の発生予防に重要と思われる。

複数の疫学研究の結果, ビタミン C と E および β -カロチンは, 脳卒中予防の可能性はあるが脳卒中のリスクに対するはっきりした防護効果を引き出せないように思われる⁴⁹⁾。しかし, これらの抗酸化栄養素は, ヒト脳卒中の発生の程度を軽減し脳卒中後の悪化を和らげる重要な成分である可能性は高い。これら抗酸化栄養素の摂取のため, 果物や野菜のさらなる消費が必要で, 現在, この事が脳卒中の発症リスクを低下させる最も確実に効果的な方法かもしれない⁵⁰⁾。

・・・・・・・・・・ 文 献 ・・・・・・・・・・

- 1) Kahles T, Brandes RP.: NADPH oxidases as therapeutic targets in ischemic stroke. *Cell Mol Life Sci.* **69**(14): 2345-2363. 2012
- 2) Yamori Y, Nagaoka A, Okamoto K.: Importance of genetic factors in hypertensive cerebrovascular lesions: an evidence obtained by successive selective breeding of stroke-prone and-resistant SHR. *Jpn Circ J.* **38**(12): 1095-1100. 1974
- 3) Yamori Y, Horie R, Sato M, *et al.*: Hypertension as an important factor for cerebrovascular atherogenesis in rats. *Stroke* **7**(2): 120-125. 1976
- 4) Gemba T, Ninomiya M, Matsunaga K, *et al.*: Changes in extracellular concentration of amino acids in the hippocampus during cerebral ischemia in stroke-prone SHR, stroke-resistant SHR and normotensive rats. *Neurosci Lett.* **135** (2): 184-188. 1992
- 5) Negishi H, Ikeda K, Nara Y, *et al.*: Increased hydroxyl radicals in the hippocampus of stroke-prone spontaneously

- hypertensive rats during transient ischemia and recirculation. *Neurosci Lett*. **306** (3): 206-208. 2001
- 6) Yamori Y.: Experimental evidence for dietary prevention of cardiovascular diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. **16**(4): 303-307. 1989
 - 7) Giugliano D.: Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. **10**(1): 38-44. 2000
 - 8) Sasaki Y, Kobara N, Higashino S, *et al.*: Astaxanthin inhibits thrombosis in cerebral vessels of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Nutr Res*. **31**(10): 784-789. 2011
 - 9) Zhang XH, Lei H, *et al.*: 2011 Increased oxidative stress is responsible for severer cerebral infarction in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *CNS Neurosci Ther*. **17**(6): 590-598. 2011
 - 10) Yasui M, Kawasaki K.: Vulnerability of CA1 neurons in SHRSP hippocampal slices to ischemia, and its protection by Ca²⁺ channel blockers. *Brain Res*. **642**(1-2): 146-152. 1994
 - 11) Tagami M, Ikeda K, Yamagata K, *et al.*: Vitamin E prevents apoptosis in hippocampal neurons caused by cerebral ischemia and reperfusion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Lab Invest*. **79**(5): 609-15. 1999
 - 12) Tagami M, Yamagata K, Ikeda K, *et al.*: Vitamin E prevents apoptosis in cortical neurons during hypoxia and oxygen reperfusion. *Lab Invest*. **78**(11): 1415-1429. 1998
 - 13) Yamagata K, Tagami M, Yamori Y.: Neuronal vulnerability of stroke-prone spontaneously hypertensive rats to ischemia and its prevention with antioxidants such as vitamin E. *Neuroscience* **170**(1): 1-7. 2010
 - 14) Sakurai-Yamashita Y, Shigematsu K, Yamashita K, *et al.*: Expression of MCP-1 in the hippocampus of SHRSP with ischemia-related delayed neuronal death. *Cell Mol Neurobiol*. **26**(4-6): 823-831. 2006
 - 15) Yamagata K, Kitazawa T, Shinoda M, *et al.*: Stroke status evoked adhesion molecule genetic alterations in astrocytes isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats and the apigenin inhibition of their expression. *Stroke Res Treat*. pii: 386389. doi: 10.4061/2010/386389. 2010
 - 16) Bolli R.: Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. *Cardiovasc Drugs Ther*. **5**(Suppl 2): 249-268. 1991
 - 17) McCord JM.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*. **312** (3): 159-163. 1985
 - 18) Thompson-Gorman SL, Zweier JL.: Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. *J Biol Chem*. **265**(12): 6656-6663. 1990
 - 19) Zweier JL, Kuppusamy P, Williams R, *et al.*: Measurement and characterization of postischemic free radical generation in the isolated perfused heart. *J Biol Chem*. **264**(32): 18890-18895. 1989
 - 20) Yamagata K, Tagami M, Ikeda K.: Yamori Y, Nara Y. Altered gene expressions during hypoxia and reoxygenation in cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Neurosci Lett*. **284**(3): 131-134. 2000
 - 21) Yang E, Korsmeyer SJ.: Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood* **88**(2): 386-401. 1996
 - 22) Shimizu S, Eguchi Y, Kosaka H. *et al.*: Prevention of hypoxia-induced cell death by Bcl-2 and Bcl-xL. *Nature* **374**(6525): 811-813. 1995
 - 23) Tagami M, Nara Y, Kubota A, *et al.*: Fujino H, Yamori Y. Ultrastructural changes in cerebral pericytes and astrocytes of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* **21**(7): 1064-1071. 1990
 - 24) Tagami M, Kubota A, Nara Y, *et al.*: Detailed disease processes of cerebral pericytes and astrocytes in stroke-prone SHR. *Clin Exp Hypertens. A* **3**(5): 1069-1075. 1991
 - 25) Yamagata K, Nara Y, Tagami M, *et al.*: Demonstration of hereditarily accelerated proliferation in astrocytes derived from spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. **22**(9): 605-609. 1995
 - 26) Planas AM, Justicia C, Soriano MA, *et al.*: Epidermal growth factor receptor in proliferating reactive glia following transient focal ischemia in the rat brain. *Glia* **23**(2): 120-129. 1998
 - 27) Tagami M, Nara Y, Kubota A, *et al.*: Ultrastructural characteristics of occluded perforating arteries in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* **18**(4): 733-740. 1987
 - 28) Yamagata K, Tagami M, Nara Y, *et al.*: Faulty induction of blood-brain barrier functions by astrocytes isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. **24**(9-10): 686-691. 1997

- 29) Yamagata K, Tagami M, Nara Y, *et al.*: Astrocyte-conditioned medium induces blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **24**(9-10): 710-713. 1997
- 30) Pellerin L, Magistretti J.: Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA.* **91**(22): 10625-10629. 1994
- 31) Dringen R, Peters H, Wiesinger H, *et al.*: Lactate transport in cultured glial cells. *Dev Neurosci.* **17**(2): 63-69. 1995
- 32) Schurr A, Payne SR, Miller JJ, *et al.*: Brain lactate is an obligatory aerobic energy substrate for functional recovery after hypoxia: further in vitro validation. *J. Neurochem.* **69**(1): 423-426. 1997
- 33) Yamagata K, Tagami M, Ikeda K, *et al.*: Reduced production of lactate during hypoxia and reoxygenation in astrocytes isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Neurosci Lett.* **296**(2-3): 113-116. 2000
- 34) Chow CK, Ibrahim W, Wei Z, *et al.*: Vitamin E regulates mitochondrial hydrogen peroxide generation. *Free Radic Biol Med.* **27**(5-6): 580-587. 1999
- 35) Chow CK.: Vitamin E and oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* **11**(2): 215-232. 1991
- 36) Amano S, Ohashi M, Kirihaara M, *et al.*: alpha-Tocopherol protects against radical-induced injury in cultured neurons. *Neurosci Lett.* **170**(1): 55-58. 1994
- 37) Schubert D, Kimura H, Maher P.: Growth factors and vitamin E modify neuronal glutamate toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* **89**(17): 8264-8267. 1992
- 38) Heiser M, Hutter-Paier B, Jerkovic L, *et al.*: Vitamin E binding protein afamin protects neuronal cells in vitro. *J Neural Transm Suppl.* (62): 337-345. 2002
- 39) Tagami M, Yamagata K, Ikeda K, *et al.*: Genetic vulnerability of cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats in hypoxia and oxygen reperfusion. *Hypertens Res.* **22**(1): 23-29. 1999
- 40) Yamagata K, Ichinose S, Tagami M.: Amlodipine and carvedilol prevent cytotoxicity in cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res.* **27**(4): 271-282. 2004
- 41) Tirosh O, Sen CK, Roy S, *et al.*: Cellular and mitochondrial changes in glutamate-induced HT4 neuronal cell death. *Neuroscience* **97**(3): 531-541. 2000
- 42) Yamagata K, Ichinose S, Miyashita A, *et al.*: Protective effects of ebselen, a seleno-organic antioxidant on neurodegeneration induced by hypoxia and reperfusion in stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Neuroscience* **153**(2): 428-435. 2008
- 43) Gross GJ, Lockwood SF.: Acute and chronic administration of disodium disuccinate astaxanthin (Cardax) produces marked cardioprotection in dog hearts. *Mol Cell Biochem.* **272**(1-2): 221-227. 2005
- 44) Shen H, Kuo CC, Chou J, *et al.*: Astaxanthin reduces ischemic brain injury in adult rats. *FASEB J.* **23**(6): 1958-1968. 2009
- 45) Li SY, Yang D, Fu ZJ, *et al.*: Lutein enhances survival and reduces neuronal damage in a mouse model of ischemic stroke. *Neurobiol Dis.* **45**(1): 624-632. 2012
- 46) Raza SS, Khan MM, Ahmad A, *et al.*: Neuroprotective effect of naringenin is mediated through suppression of NF- κ B signaling pathway in experimental stroke. *Neuroscience* **230**:157-171. 2013
- 47) Qian Y, Guan T, Huang M, *et al.*: Neuroprotection by the soy isoflavone, genistein, via inhibition of mitochondria-dependent apoptosis pathways and reactive oxygen induced-NF- κ B activation in a cerebral ischemia mouse model. *Neurochem Int.* **60**(8): 759-67. 2012
- 48) Ikemura M, Sasaki Y, Giddings JC, *et al.*: Preventive effects of hesperidin, glucosyl hesperidin and naringin on hypertension and cerebral thrombosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Phytother Res.* **26**(9): 1272-1277. 2012
- 49) Tornwall ME, Virtamo J, Korhonen PA, *et al.*: Postintervention effect of alpha tocopherol and beta carotene on different strokes:a 6-year follow-up of the alpha tocopherol, beta carotene cancer prevention study. *Stroke* **35**(8): 1908-1913. 2004
- 50) Suter PM.: Effect of vitamin E, vitamin C, and beta-carotene on stroke risk. *Nutr Rev.* **58**(6): 184-187. 2000

食成分と健康長寿

—レスベラトロールの研究結果を中心に—

早田 邦康 (SODA Kuniyasu) *

* 自治医科大学大学院 循環器病臨床医学研究所

Key Words：レスベラトロール・ポリフェノール・サーチュイン・長寿・生活習慣病

要旨

ポリフェノール、とくにレスベラトロールは、生活習慣病予防と健康長寿を達成する可能性のある食成分として注目されてきた。しかし、実際の研究結果はすべてが肯定的なものばかりではない。最近では、レスベラトロールやカロリー制限によるサーチュイン遺伝子の活性化やサーチュイン遺伝子の活性化が長寿をもたらすという機能そのものに関しても否定的な検討結果が数多く報告されている。そこで、レスベラトロールと健康長寿の最近の研究結果をまとめるとともに、健康長寿に関する食成分の研究結果を紹介する。

はじめに

一般的に、研究者にとって好ましい(?) データは素早く報告されるものの、好ましくない(?) データはあえて報告されないことが多い。よって、専門家以外の研究者には否定的な研究結果は伝わりにくいのが一般的だ。

例えば、イソフラボンに関しては、海外の専門家の間でその効果に対して否定的な見解が主流になった後でも数年間にわたりアンチエイジング効果を強調する記事がたくさん出回った。最近では、レスベラトロールに関しても同様の傾向がある。すでに数年前からレスベラトロールのアンチエイジング効果に対して否定的な実験結果が数多く報告される様になったが、その事実は日本ではあまり公表されていないように思える。それどころか、レスベラトロールの長寿健康効果には何の疑問もなく、ヒトでも実証されているかのようにアンチエイジング医学の

専門家が解説している。

食に関する研究結果は、医学者以外の多くの方々の関心を集めることから、新しい情報をわかりやすく提供するということも重要である。そこで、多くの方々に関心の高いレスベラトロールに関し、現在どのようなデータが存在し、専門家の間ではどのように考えられているのかを概説するとともに、その他の食成分に関する検討結果も紹介する。

1. サーチュインによる長寿

サーチュインという名前を聞いたことのある方は少なくないであろう。長寿遺伝子または長生き遺伝子、抗老化遺伝子とも呼ばれ、その活性化により生物の寿命が延びるとされてきた。2000 年ごろから、サーチュイン遺伝子 (Sirtuin) (Sir2) の活性化によって、酵母¹⁾、ショウジョ

ウバエ²⁾や線虫³⁻⁵⁾などの、多くの生物の寿命が延長することが報告された。

哺乳類であるマウスを用いた検討では、酵母やショウジョウバエの Sir2 に相当する遺伝子である SIRT1 (哺乳類における Sir2 と同等の遺伝子) を欠損させると、胎児の発育障害を伴って早期に死亡することが報告されている⁶⁾。また、生き残っても多くの障害を有し^{7, 8)}、生存期間の中央値は 1 年と短命である⁹⁻¹⁰⁾。

そこで、サーチュインの機能に注目が集まり、様々な検討がなされてきた。SIRT1 遺伝子を活性化したマウスでは、糖代謝の改善や骨のミネラル代謝が改善し、肉腫や癌の発生が減少し、加齢に伴う様々な変化 (INK4A expression and DNA damage) が抑制される¹¹⁾。また、SIRT1 遺伝子の活性化により、老化に伴う心臓血管病変の進行抑制や¹²⁻¹⁵⁾、アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症などに相当する病態の発症や進行を抑制し^{16, 17)}、膵臓の β 細胞のインスリン分泌を促進することが報告されている¹⁸⁾。また、SIRT1 を過剰発現させたマウスにおいては生活習慣病や老化の原因の一つである炎症を誘発する炎症性サイトカインの産生が抑制されることなども報告されている¹⁹⁾。これらは、すべてサーチュイン遺伝子が生活習慣病の発症や老化の進行を抑制する可能性を示唆する研究結果である。

しかし、同時に、線虫やショウジョウバエに Sir2 を過剰に発現させても長寿をもたらさない事も複数の論文で報告されている²⁰⁻²²⁾。また、哺乳類であるマウスに SIRT1 を過剰発現させた場合には、体内にさまざまな変化が生じ、その変化が生活習慣病や老化を抑制する様に作用する可能性はあるものの、実際に長寿をもたらした事は報告されていない^{11, 19, 23, 24)}。これらのデータを総合的に解釈すると、サーチュイン遺伝子は、加齢に伴う何らかの拮抗的な作用を発揮する可能性はあるものの、実際に寿命の

延長には寄与することなく、サーチュインは必ずしも長寿遺伝子とは言い難い。その後、最近になって、サーチュインによる生物の寿命延長を報告してきた Kaeberlein M も、サーチュイン遺伝子の活性化による寿命延長に関しては否定的な見解を示している²⁵⁾。

2. カロリー制限と寿命延長

カロリーの摂り過ぎは肥満をもたらし、様々な生活習慣病の原因を誘発し、寿命を縮める原因になることは知られている。そこで、カロリー制限をして、過剰なエネルギーを供給しないようにしたら寿命が延長するのではないかと考えられる様になった。

当初は、カロリー制限によって酵母の寿命が延長することが報告された²⁶⁻²⁹⁾。そして、衝撃的だったのは、カロリー制限をしたアカゲザルでは、制限をしないサルと比較すると寿命が延長することが報告された事であった³⁰⁾。この時には、アカゲザルの写真も公開され、カロリー制限をしたサルの若々しい様子にはだれもが驚いたことであろう。

しかし、ヒトを対象にした調査では、標準体重より少し体重の多いヒトが長生きであるという疫学調査の結果があり、食事制限による寿命延長がヒトでもあてはまるのかどうかということは疑問である。前述の研究結果を出した施設とは別の研究施設においてカロリー制限が老化や寿命におよぼす影響が検討されたが、カロリー制限がアカゲザルの寿命を延ばす効果は認められなかったことが報告されている³¹⁾。

3. カロリー制限とサーチュイン

上述のように、1990 年ごろから、カロリー制限をする事によって寿命が延長することが報告され、同時に、カロリー制限による寿命延長

にはサーチュインが関与していることが報告されてきた。例えば、酵母^{28, 32)}、線形動物^{33, 34)}、後生動物³⁵⁾、およびショウジョウバエ²⁾などにおいて、カロリー制限するとサーチュイン遺伝子が活性化される事が報告された。また、細胞レベルや哺乳類における検討でも、カロリー制限によるインスリンの感受性の改善などの内分泌代謝機能や神経系に対する作用が、サーチュイン遺伝子の活性化を介していると思われる結果が報告されてきた^{9, 36-40)}。すなわち、カロリー制限によって長寿遺伝子と考えられていたサーチュイン遺伝子が活性化され、寿命が延長すると考えられる様になった。

しかし、酵母を用いた検討によって、カロリー制限による寿命延長にはサーチュイン遺伝子の活性化は関与していない可能性を示す論文が数多く報告されている⁴¹⁻⁴⁵⁾。

4. レスベラトロールに関して

以上のように、当初考えられていた、カロリー制限→サーチュイン遺伝子の活性化→長寿、という構図が確固たるものではないことが指摘されてきた。それでは、レスベラトロールに関してはどうか。

当初赤ワインを多く飲むヒトが動脈硬化による病気が少ないことが報告され、フランス人が周辺の国民より赤ワインを多く飲み、周囲の国民と比較すると動脈硬化による病気が少ないことからフレンチパラドックスと呼ばれた。そして、赤ワインには抗酸化作用を発揮するポリフェノールがたくさん含まれていることから、ワインの抗酸化成分が効果を発揮していると考えられた。また、緑黄色野菜や果物を多く食べるヒトは健康で長生きであるという疫学調査の結果から、赤ワインと同様、これらの色素の成分であるポリフェノールにアンチエイジング成分としての注目が集まった。その後、無数と

いってもいい数の抗酸化物質が植物の色素に見いだされ検討されてきたのはご存知のとおりである。しかし、これまで、これらのポリフェノールが哺乳類の寿命を伸ばす事を明確に示した論文はないといっている。また、レスベラトロールは吸収が悪く、これまでの研究結果から推測すると血中のレスベラトロールが作用を発揮する有効な濃度まで上昇させるためには、赤ワインであれば2-3本、ぶどうの皮であれば1kg程度摂取しなければならないことになる。一方、試験管レベルでの検討では、その多くが上述の量を摂取する事によって上昇するであろう血中濃度の数万倍以上の濃度を用いて検討をおこなっている。これまでは、これらの矛盾があっても、基礎的な研究結果がポリフェノールによる健康長寿効果の可能性をサポートしていた。

レスベラトロールは、赤ぶどうの皮に含まれるポリフェノールである。ポリフェノールが酵母のサーチュインを活性化し寿命を延長することが報告され⁴⁶⁾、同様に、ショウジョウバエ(*Drosophila*)の寿命を延長するとの報告もなされた³⁵⁾。しかし、同時に、これらの研究結果に対する疑問を呈する論文が数多く存在する。すなわち、レスベラトロールはショウジョウバエの寿命を延長できるわけではないというのである⁴⁷⁾。

では、レスベラトロールが我々哺乳類の寿命におよぼす影響はどのようなものであろうか?。確かに、レスベラトロールを大量に投与するとマウスの寿命が延長(?)したとの報告がある⁴⁸⁾。ところが、この論文では、極端な高カロリーの餌をマウスに投与しており、高度に肥満したマウスに対する検討結果である。この検討結果からは、極端に過剰なカロリー摂取をさせた肥満マウスにおいては、レスベラトロールの投与が寿命の短縮を回避できたという解釈ができる。すなわち、これをヒトに置き変えると、高度の高カロリー摂取とそれに伴う高度肥満状

態の患者に大量のレスベラトロールを投与すると、早死にする事から逃れられる可能性があるということである。しかし、普通のカロリーを摂取している個体ではどうだろうか？。レスベラトロールが哺乳類の体内でも作用している所見はあるものの、寿命を伸ばす事は出来ない事が報告されている⁴⁹⁻⁵¹⁾。また、ヒトに対するレスベラトロールの効果の検討では、良い影響が確認できないことが示されている⁵²⁾。

当初、レスベラトロールはサーチュインを刺激することが報告され^{53, 54)}、このことがレスベラトロールによるアンチエイジング効果の期待を高ませる事にもなった。しかし、このこと、すなわちレスベラトロールが Sirt を活性化させるということも否定する論文が出されている⁵⁵⁻⁵⁷⁾。

5. その他の抗酸化物質

レスベラトロール以外にも多くの抗酸化物質がこれまでアンチエイジング物質として検討されてきた。その中でも、大豆に含まれるイソフラボンは分子量も小さく、消化管から体内へ吸収され、生活習慣病を抑制すると考えられる生理活性を有し、大豆を食べる地域の住民の生活習慣病が少なく長生きであるという疫学調査の結果などによって大きな期待を浴びた。しかし、様々な検討の結果、イソフラボンには生活習慣病予防抑制や寿命延長の効果はないことが指摘されている⁵⁸⁾。

その他、多くのポリフェノールなどの成分に生活習慣病の予防に結びつくことが推測される生理活性を有していることが示されている。このようなことが示されている緑茶抽出物、クルクミン、オキサロ酢酸、および中鎖脂肪酸オイルがマウスの寿命を延長させることが出来るどうか検討された。しかし、そのいずれの物質もマウスの寿命を延長させることが出来なかつ

たと報告されている⁵⁹⁾。

6. 長寿食の長寿成分

上述したように、食物中の抗酸化物質やカロリー制限がヒトの健康長寿に役になっているという証拠は、極めて不確かなものになっているといつてよいだろう。では、世界の中で最も長寿国の一つに住む日本人が食べてきた日本食の特徴は何だろう。

まず、日本食は肉食より魚食が多いことが挙げられる。その中でも、体内に取り込まれた際に炎症を誘発しにくくなる n3 系不飽和脂肪酸が動脈硬化の進行抑制に寄与していることが報告されている。しかし、魚食に含まれる n3 系不飽和脂肪酸で日本人の健康長寿が説明できるかということ、必ずしもそうではない。

食べ物に含まれる脂肪酸は吸収されると体内の細胞の構築に利用される。ところが、n3 系不飽和脂肪酸は酸化ストレスに弱く、n3 系不飽和脂肪酸で構成された細胞は、当然の事ながら酸化ストレスに対して弱くなる。実際に不飽和脂肪酸を多量に投与した動物は早死にする事も報告されている⁶⁰⁾。一方で、動物の肉に多く含まれる飽和脂肪酸は、生体内では重要な役割を数多く有しており、その不足は重大な問題を誘発することがわかっている。

日本食は、大豆製品と魚貝類の多いことが特徴である。さらに、特徴的なのは、大豆を発酵させた食品や魚介類を内臓や魚卵ごと食べることである。納豆や味噌、小魚や小エビを丸ごと調理した甘露煮や佃煮、および魚卵を使った食材（いくら、かずのこ、たらこ）がこれらにあてはまる。興味深いのは、これらの食材は全てポリアミンという物質の濃度が極めて高いということである⁶¹⁾。また、これまで西欧諸国で長寿と関連のあることでよく知られている地中海食という食事習慣も高ポリアミン食であるこ

とを報告している⁶²⁻⁶⁵⁾。すなわち、ワイン、チーズやオリーブオイルなどの地中海食の要素である食品を好む国民はポリアミンの多く含まれる食物を好む傾向にある。同様に、緑黄色野菜や果物を好む国民も、ポリアミンを多く含む食材を好む。一方、地中海食の要素に含まれない食品、例えば牛乳や芋類はポリアミン量とは負の相関を示すか、相関関係はなかった⁶¹⁾。生活習慣病予防のためには、デザート摂取を控えるようにとの指導がWHOなどからなされているが、西欧のデザートはポリアミンがほとんど含まれていない小麦とバターが主原料であり、高カロリー低ポリアミン食である⁶¹⁾。一方、

日本のデザートは、多くのものが高ポリアミン食材である大豆と小豆によって作られている。

おわりに

レスベラトロールを中心に抗酸化物質であるポリフェノールの研究結果を紹介した。我々は、高ポリアミン食の摂取によってヒトとマウスの体内でポリアミンが上昇し⁶⁶⁾、血中ポリアミン濃度が上昇したマウスでは、老化に伴う遺伝子の変化やその結果体内で生じる変化が抑制され長寿になる事を示している⁶⁷⁾。次の投稿では、我々のポリアミンの長寿に関する最も新しい研究結果を紹介したい。

・・・・・・・・・・ 文 献 ・・・・・・・・・・

- 1) Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev* 13:2570-80, 1999.
- 2) Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:15998-6003, 2004.
- 3) Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 410:227-30, 2001.
- 4) Viswanathan M, Kim SK, Berdichevsky A, Guarente L. A role for SIR-2.1 regulation of ER stress response genes in determining *C. elegans* life span. *Dev Cell* 9:605-15, 2005.
- 5) Berdichevsky A, Viswanathan M, Horvitz HR, Guarente L. *C. elegans* SIR-2.1 interacts with 14-3-3 proteins to activate DAF-16 and extend life span. *Cell* 125:1165-77, 2006.
- 6) McBurney MW, Yang X, Jardine K, et.al. The mammalian SIR2alpha protein has a role in embryogenesis and gametogenesis. *Mol Cell Biol* 23:38-54, 2003.
- 7) Cheng HL, Mostoslavsky R, Saito S, et.al. Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:10794-9, 2003.
- 8) Deng CX. SIRT1, is it a tumor promoter or tumor suppressor? *Int J Biol Sci* 5:147-52, 2009.
- 9) Boily G, Seifert EL, Bevilacqua L, et.al. SirT1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. *PLoS One* 3:e1759, 2008.
- 10) Li Y, Xu W, McBurney MW, Longo VD. SirT1 inhibition reduces IGF-I/IRS-2/Ras/ERK1/2 signaling and protects neurons. *Cell Metab* 8:38-48, 2008.
- 11) Herranz D, Munoz-Martin M, Canamero M, et.al. Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer. *Nat Commun* 1:3, 2010.
- 12) Alcendor RR, Gao S, Zhai P, et.al. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res* 100:1512-21, 2007.
- 13) Zhang QJ, Wang Z, Chen HZ, et.al. Endothelium-specific overexpression of class III deacetylase SIRT1 decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res* 80:191-9, 2008.
- 14) Stein S, Schafer N, Breitenstein A, et.al. SIRT1 reduces endothelial activation without affecting vascular function in ApoE-/- mice. *Aging (Albany NY)* 2:353-60, 2010.
- 15) Stein S, Lohmann C, Schafer N, et.al. SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherogenesis. *Eur*

Heart J **31**:2301-9, 2010.

- 16) Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, *et.al.* SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J* **26**:3169-79, 2007.
- 17) Donmez G, Wang D, Cohen DE, Guarente L. SIRT1 suppresses beta-amyloid production by activating the alpha-secretase gene ADAM10. *Cell* **142**:320-32, 2010.
- 18) Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, *et.al.* Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab* **2**:105-17, 2005.
- 19) Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschop MH. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**:9793-8, 2008.
- 20) Astrom SU, Cline TW, Rine J. The *Drosophila melanogaster* sir2+ gene is nonessential and has only minor effects on position-effect variegation. *Genetics* **163**:931-7, 2003.
- 21) Newman BL, Lundblad JR, Chen Y, Smolik SM. A *Drosophila* homologue of Sir2 modifies position-effect variegation but does not affect life span. *Genetics* **162**:1675-85, 2002.
- 22) Burnett C, Valentini S, Cabreiro F, *et.al.* Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature* **477**:482-5, 2011.
- 23) Bordone L, Cohen D, Robinson A, *et.al.* SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell* **6**:759-67, 2007.
- 24) Banks AS, Kon N, Knight C, *et.al.* SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab* **8**:333-41, 2008.
- 25) Couzin-Frankel J. Genetics. Aging genes: the sirtuin story unravels. *Science* **334**:1194-8, 2011.
- 26) Fabrizio P, Battistella L, Vardavas R, *et.al.* Superoxide is a mediator of an altruistic aging program in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol* **166**:1055-67, 2004.
- 27) Fabrizio P, Longo VD. The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae*. *Aging Cell* **2**:73-81, 2003.
- 28) Lin SJ, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* **289**:2126-8, 2000.
- 29) Longo VD, Ellerby LM, Bredesen DE, Valentine JS, Gralla EB. Human Bcl-2 reverses survival defects in yeast lacking superoxide dismutase and delays death of wild-type yeast. *J Cell Biol* **137**:1581-8, 1997.
- 30) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, *et.al.* Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* **325**:201-4, 2009.
- 31) Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, *et.al.* Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. *Nature* **489**:318-21, 2012.
- 32) Lin SJ, Kaeberlein M, Andalis AA, *et.al.* Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature* **418**:344-8, 2002.
- 33) Wang Y, Tissenbaum HA. Overlapping and distinct functions for a *Caenorhabditis elegans* SIR2 and DAF-16/FOXO. *Mech Ageing Dev* **127**:48-56, 2006.
- 34) Bamps S, Wirtz J, Savory FR, Lake D, Hope IA. The *Caenorhabditis elegans* sirtuin gene, sir-2.1, is widely expressed and induced upon caloric restriction. *Mech Ageing Dev* **130**:762-70, 2009.
- 35) Wood JG, Rogina B, Lavu S, *et.al.* Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **430**:686-9, 2004.
- 36) Cohen DE, Supinski AM, Bonkowski MS, Donmez G, Guarente LP. Neuronal SIRT1 regulates endocrine and behavioral responses to calorie restriction. *Genes Dev* **23**:2812-7, 2009.
- 37) Chen D, Steele AD, Lindquist S, Guarente L. Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. *Science* **310**:1641, 2005.
- 38) Qin W, Yang T, Ho L, *et.al.* Neuronal SIRT1 activation as a novel mechanism underlying the prevention of Alzheimer disease amyloid neuropathology by calorie restriction. *J Biol Chem* **281**:21745-54, 2006.
- 39) Satoh A, Brace CS, Ben-Josef G, *et.al.* SIRT1 promotes the central adaptive response to diet restriction through activation of the dorsomedial and lateral nuclei of the hypothalamus. *J Neurosci* **30**:10220-32, 2010.
- 40) Kume S, Uzu T, Horiike K, *et.al.* Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. *J Clin Invest* **120**:1043-55, 2010.
- 41) Kaeberlein M, Kirkland KT, Fields S, Kennedy BK. Sir2-independent life span extension by calorie restriction in

- yeast. *PLoS Biol* **2**:E296, 2004.
- 42) Fabrizio P, Gattazzo C, Battistella L, *et.al*. Sir2 blocks extreme life-span extension. *Cell* **123**:655-67, 2005.
- 43) Kaerberlein M. Lessons on longevity from budding yeast. *Nature* **464**:513-9, 2010.
- 44) Kenyon CJ. The genetics of ageing. *Nature* **464**:504-12, 2010.
- 45) Garber K. A mid-life crisis for aging theory. *Nat Biotechnol* **26**:371-4, 2008.
- 46) Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, *et.al*. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* **425**:191-6, 2003.
- 47) Bass TM, Weinkove D, Houthoofd K, Gems D, Partridge L. Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mech Ageing Dev* **128**:546-52, 2007.
- 48) Baur JA, Pearson KJ, Price NL, *et.al*. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **444**:337-42, 2006.
- 49) Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, *et.al*. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* **8**:157-68, 2008.
- 50) Miller RA, Harrison DE, Astle CM, *et.al*. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **66**:191-201, 2011.
- 51) Milne JC, Lambert PD, Schenk S, *et.al*. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature* **450**:712-6, 2007.
- 52) Yoshino J, Conte C, Fontana L, *et.al*. Resveratrol supplementation does not improve metabolic function in nonobese women with normal glucose tolerance. *Cell Metab* **16**:658-64, 2012.
- 53) Lagouge M, Arghmann C, Gerhart-Hines Z, *et.al*. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* **127**:1109-22, 2006.
- 54) Borra MT, Smith BC, Denu JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *J Biol Chem* **280**:17187-95, 2005.
- 55) Kaerberlein M, McDonagh T, Heltweg B, *et.al*. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem* **280**:17038-45, 2005.
- 56) Beher D, Wu J, Cumine S, *et.al*. Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. *Chem Biol Drug Des* **74**:619-24, 2009.
- 57) Pacholec M, Bleasdale JE, Chrzynek B, *et.al*. SIRT1720, SIRT2183, SIRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem* **285**:8340-51, 2010.
- 58) Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L, Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for professionals from the Nutrition Committee. *Circulation* **113**:1034-44, 2006.
- 59) Strong R, Miller RA, Astle CM, *et.al*. Evaluation of resveratrol, green tea extract, curcumin, oxaloacetic Acid, and medium-chain triglyceride oil on life span of genetically heterogeneous mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **68**:6-16, 2012.
- 60) Tsuduki T, Honma T, Nakagawa K, Ikeda I, Miyazawa T. Long-term intake of fish oil increases oxidative stress and decreases lifespan in senescence-accelerated mice. *Nutrition* **27**:334-337, 2011.
- 61) 早田邦康 . ポリアミンと健康長寿食 . *New Food Industry* **54**:27-36, 2012.
- 62) Soda K. Polyamines-The Principal Candidate Substance of Soybean-Induced Health. In: El-Shemy H, Ed. Soybean and health. Rijeka: InTech, p489-502, 2011.
- 63) Soda K. Polyamine intake, dietary pattern, and cardiovascular disease. *Med Hypotheses* **75**:299-301, 2010.
- 64) Binh PNT, Soda K, Kawakami M. Mediterranean diet and polyamine intake –possible contribution of increased polyamine intake to inhibition of age-associated disease. *Nutrition and Dietary Supplements* **3**:1-7, 2011.
- 65) Binh PNT, Soda K, Kawakami M. Gross domestic product and dietary pattern among 49 Western countries with a focus on polyamine intake. *Health* **2**:1327-34, 2010.
- 66) Soda K, Kano Y, Sakuragi M, Takao K, Lefor A, Konishi F. Long-term oral polyamine intake increases blood polyamine concentrations. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* **55**:361-6, 2009.
- 67) Soda K, Dobashi Y, Kano Y, Tsujinaka S, Konishi F. Polyamine-rich food decreases age-associated pathology and mortality in aged mice. *Exp Gerontol* **44**:727-32, 2009.

紅麹が有する強力な血栓溶解活性 —新しい基質特異性とその応用面について—

須見 洋行 (SUMI Hiroyuki) *1 内藤 佐和 (NAITO Sawa) *1 矢田貝 智恵子 (YATAGAI Chieko) *2
大杉 忠則 (OHSUGI Tadanori) *1 柳澤 泰任 (YANAGISAWA Yasuhide) *3 岡田 幸子 (OKADA Sachiko) *4 今井 雅敏 (IMAI Masatoshi) *5 丸山 眞杉 (MARUYAMA Masugi) *5

*1 倉敷芸術科学大学 生命科学部生命科学科, *2 倉敷芸術科学大学 生命科学部健康科学科,
*3 千葉科学大学 薬学部薬学科, *4 株式会社半鐘屋, *5 宮崎大学 医学部応用生理学教室

Key Words：紅麹・コレステロール・血栓溶解作用・発酵食品・ポリアミン

はじめに

Monascus 属のカビを利用した紅麹は中国大陸と台湾で古くから生産されている。食品として利用されるだけでなく、ある種の紅麹は身体に良い健康食品として様々な作用があることが確認されている。中国では 1500 年程昔から漢方薬として用いられ、「神農本草」の中にも健康燥脾、消食活血など血行を良くし、消化を助けるとの記述がみられる。

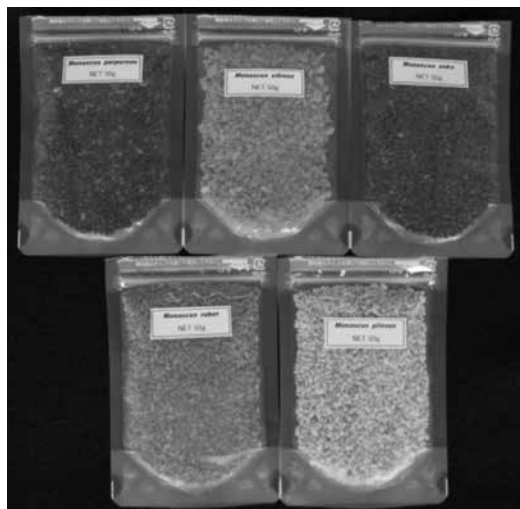


図 1 紅麹の種類

Monascus 属は半子(う)菌科の一種で黄麹菌の類縁といえる。麹の中には紅麹のように血行改善の生薬として使われている他、モナスコルピンには強いガン予防効果が報告されている。また、紅麹はアメリカでは「レッド・イースト・ライス」と呼ばれ、コレステロール対策の定番サプリメントの1つでもある。

本著では 5 種類の紅麹を比較し、比較的強い血栓溶解酵素を含むものがあること、また、アミダーゼ活性、セルラーゼ活性、ポリアミンの幾つかを明らかにした。

1. 材料および方法

紅麹は 5 種類 (*M. purpureus*, *M. pilosus*, *M. ruber*, *M. vitreus*, *M. anka*) を秋田今野株式会社より購入し(図 1), 各々 0.1 g/ml 生理食塩水で抽出した。

人工血栓平板法

人工血栓活性は人工血栓(フィブリン)平板法で測定した¹⁾。0.5% フィブリンノーゲン溶液(0.17M ホウ酸-生食緩衝液:pH 7.8) 10 ml と

50 U/ml のトロンビン 500 μ l を用いて平板を作製し、試料 30 μ l をのせ、37℃でインキュベーションし、24 時間後に生じる溶解面積 (mm²) を測定した。

アミダーゼ活性

各試料のアミダーゼ活性は常法通り各合成基質 (5 mM) を用い、pNA の 405 nm における吸光度で測定した²⁾。

CMC 平板法

セルラーゼ活性はカルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 平板法で測定した³⁾。硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウム 7 水和物、燐酸水素 2 ナトリウム 12 水和物、燐酸 2 水素カリウム、CMC、アジ化ナトリウムをイオン交換水にて加熱溶解し、さらに寒天を加え溶解後、角シャーレに 40 ml ずつ分注し平板を作成した。試料滴下後 37℃でインキュベーションし、0.1% Congo red で染色、さらに 1M NaCl で脱色し溶解面積を測定した。

ポリアミン

サンプル調製およびポリアミンの分析は斎藤らの方法に準じて行った⁴⁾。

各試料 1g と 5% トリクロロ酢酸 4 ml をホモジナイザーで 10 分間攪拌後、イオン交換水で 10 ml にメスアップした。遠心分離 (3,000 rpm, 5 分, 20℃) 後、さらにろ過 (No.5Bφ90 mm) したものを 1ml に内部標準として 20 μ g/ml ジエチレントリアミン (Det) を 0.5 ml 加え、NaOH で pH5.6-7.4 になるよう調整後、0.1M 酢酸緩衝液 (pH5.6) で 5 ml にした。イオン交換樹脂アンバーライト CG-50 を用いてカラム処理を行い、0.1NHCl で溶出したものを真空乾燥後、0.05MHCl に溶解させフィルター (0.2 μ m) 処理したものを HPLC のサンプルとした。

ポリアミンはオンカラム法でカラムは

Asahipak ODP-50 (150 × 4.6 mm) を用い、2 mM の OPA および NAC を含む 50 mM ホウ酸塩緩衝液 (pH9.9)：アセトニトリル (77：23, v/v) を移動相とし、励起波長 340 nm, 蛍光波長 440 nm, カラム温度 40℃, 流速 0.5 ml/min で測定を行い、ChromNAVI システムにより解析を行った。

2. 成績

各種の紅麹抽出液の血栓溶解活性を人工血栓平板で測定したところ、図 2 に示すように *M. pilosus*, *M. ruber*, *M. vitreus* の 3 種に非常に強い活性がみられた。

さらに、この抽出液が持つ合成アミド分解活性を 12 種類の合成基質を用いて比較した。特に Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-pNA, Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA および H-D-Val-Leu-Lys-pNA で強い分解の見られることが分かった (図 3)。

また、*M. purpureus* および *M. anka* に CMC 分解活性が見られたが、他の紅麹では同条件では全く検出されなかった (図 4)。同じく、5 種の紅麹に含まれるポリアミンを定量した結果、

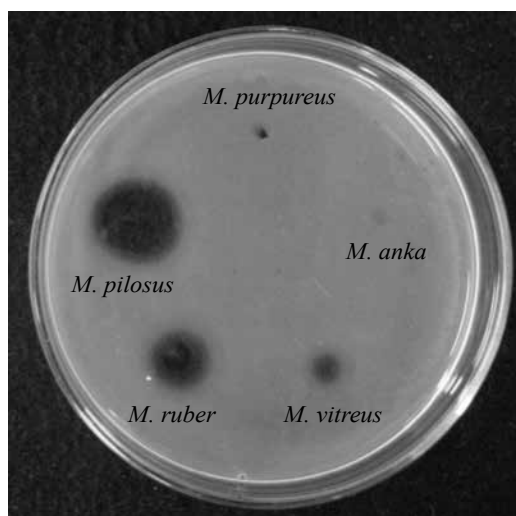


図 2 紅麹の人工血栓溶解活性

(37℃, 24 時間)

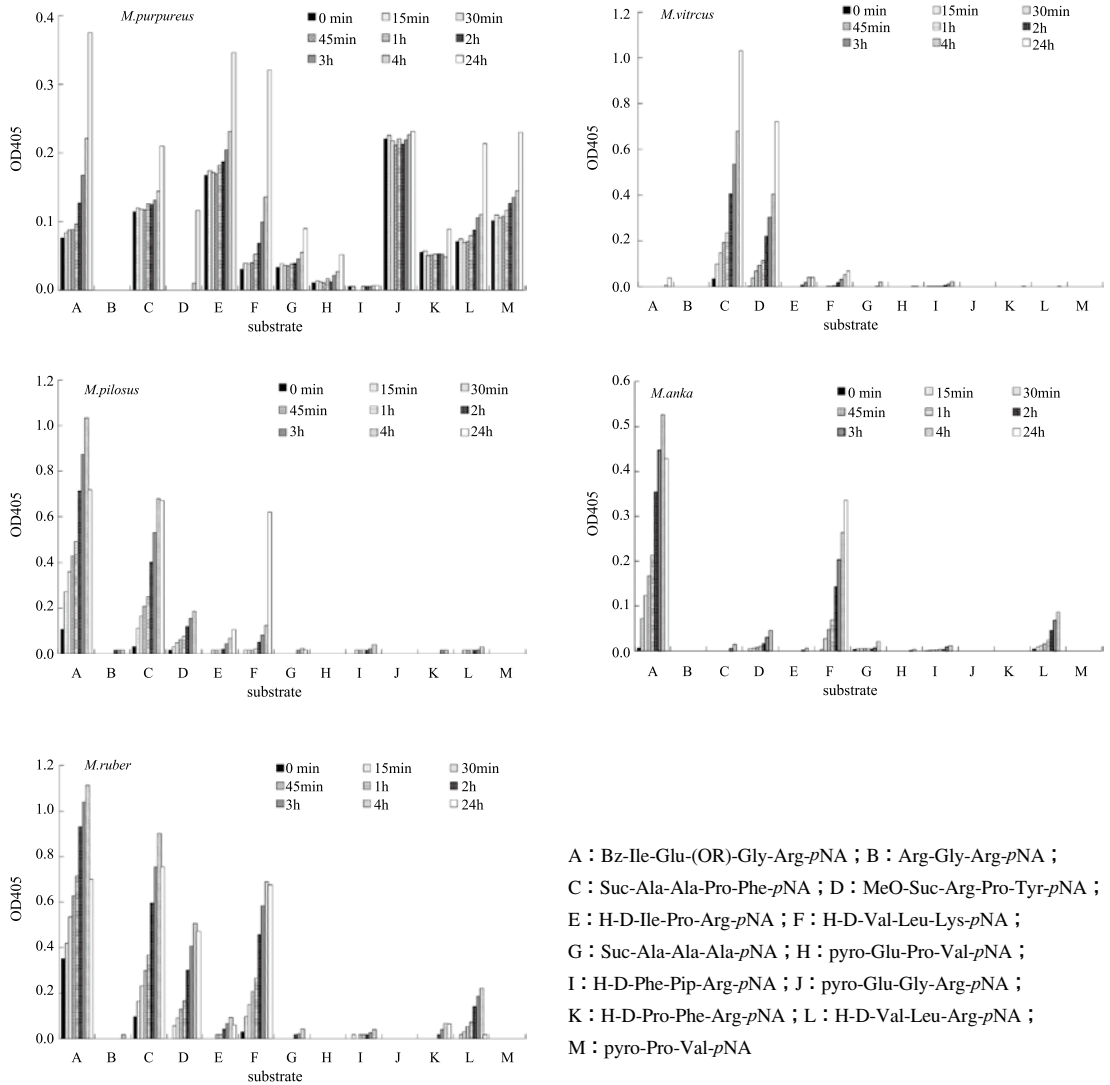


図3 紅麹のアミド分解活性

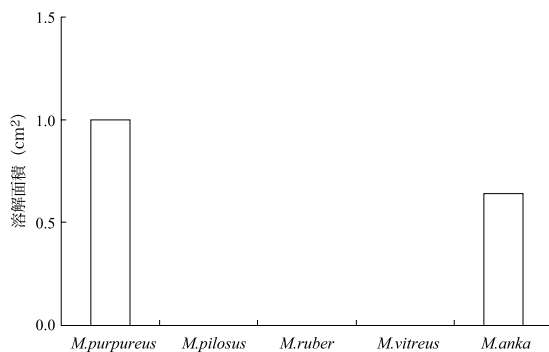


図4 紅麹のCMC 分解活性

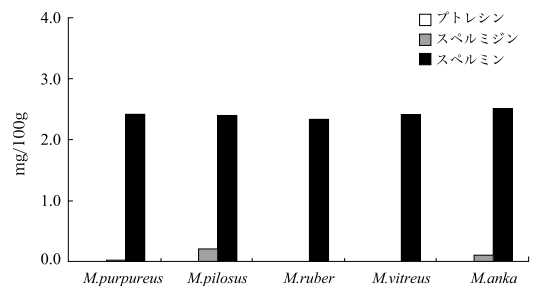


図5 紅麹のポリアミン量

代表的な3種のポリアミンのうちスペルミンがほとんどで、スペルミジンは非常に少ないことが分かった(図5)。

3. 考察

紅麹はいずれもアジアの発酵食品として有名であるが、5種類の紅麹(*M.purpureus*, *M.pilosus*, *M.ruber*, *M.vitreus*, *M.anka*)について、その血栓溶解活性を調べたところ、特に*M.pilosus*と*M.ruber*に強い溶解活性が見られた。また合成アミドを基質に測定したところ、強い Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-pNA, Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA, H-D-Val-Leu-Lys-pNA などの分解活性が認められたことなどから、これらはプラスミン生成にも働くものと思われた。*M.pilosus*には血圧降下作用のあることがラットの投与試験でも見出されている⁵⁾。

一方、セルラーゼ活性およびポリアミン量はいずれも比較的低かった。ポリアミンには血栓溶解系を高めるとする報告もあるが、紅麹中のポリアミン含量は大差なく総じて低く、一般の麹、チーズ、納豆、テンペ等と比べてもポリアミン含量の低い部類に入ると考えられた⁶⁾。

おわりに

紅麹は発酵食品の中でも主に酒、豆腐ように応用されてきた。酒の香り成分は血液中の血小板凝集反応抑制能が認められており⁷⁾、現在、紅麹を利用した酒についても検討している。

また、豆腐ようには赤血球変形能亢進作用のあることが報告されており⁸⁾、最近流行りの「塩麹」に紅麹を用いた「塩紅麹」について、特に納豆との組合せなど、現在試験中である。

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

- 1) H. Sumi, H. Hamada, H. Tsushima, H. Mihara and H. Muraki,; A novel fibrinolytic enzyme nattokinase in the vegetable cheese natto: a typical and popular soybean food in the Japanese diet, *Experientia*, **43**, 1110-1111, 1987.
- 2) 須見洋行：ナットウキナーゼ，納豆の研究法，木内幹編，p.158-160，恒星社厚生閣，2010.
- 3) S. Suzuki, Y. Komiya, T. Mitsui, S. Tsuyamu, H. Kunouh, T. L. W. Carver and R. Nicholson,; Release of cell wall degrading enzymes from conidia of *Blumeria graminis* on artificial substrata, *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, **64**, 160-167, 1998.
- 4) K. Saito, M. Horie, N. Nose, K. Nakagomi and H. Nakazawa,; Determination of polyamine in foods by liquid chromatography with on-column fluorescence derivatization, *Ana. Sci.*, **8**:675-680, 1992.
- 5) 安田正昭:第5章豆腐のような機能性，大豆のすべて，喜多村啓介編，p.306-309，サイエンスフォーラム，2010.
- 6) 須見洋行，瀬良田充：ポリアミンリッチな食品開発の検討，平成23年度特別電源所在県科学技術振興事業報告書，2012。（印刷中）
- 7) H. Sumi, S. Tokudome, Y. Yamaguchi, S. Naito, C. Yatagai, M. Imai and M. Maruyama,; Effects of Shochu' s aromatic components on tissue plasminogen activator (t-PA) release and platelet aggregation activities, 21st International Congress on Fibrinolysis & Proteolysis, Brighton, UK, 2012.
- 8) 井上文英：「唐芙蓉」投与による高脂肪食摂取マウスの赤血球変形能の向上，医学と生物学，**150**, 438-442, 2006.

糖類の抗炎症作用

芳野 恭士 (YOSHINO Kyoji) *

* 沼津工業高等専門学校 物質工学科

Key Words：オリゴ糖・多糖・接触皮膚炎抑制作用・胃炎抑制作用・抗酸化作用

はじめに

炎症は、アレルギー疾患や腫瘍、各種感染症などの様々な疾病において、主要あるいは副次的に現れる症状の一つであり、痛みを伴うという点で患者にとって大変厄介である。炎症を抑制することは、多くの場合対症療法であり疾病そのものの原因を排除することにはならないこともあるが、患者の苦痛を軽減して疾病からの治癒の意欲を高めること、あるいは症状の悪化を遅らせることといった点では、意義のあることと考えられる。特に、医薬品としてではなく日常の食事を利用して炎症を軽減する作用を持つ天然素材を摂取することができれば、より安全かつ手軽、さらには安価にその目的を達成することができるものと期待される。食品は一般に天然物であるため、医薬品に比較して有効成分の含有量が少ない代わりに、長期に摂取できる点や、同様の効果を持つ多種多様な食品を、摂取する者の嗜好に合わせて選択できるといった点で、優れているものと考えられる。従って、その主な目的は、疾病の治癒よりは疾病の予防あるいは治癒における補助的な役割と考えるのが適切と思われる。ただし、IV型アレルギーとして知られる接触皮膚炎のように、炎症そのものが主要因であるような疾病の場合には、炎

症を抑制することが重要な意味を持つことになる。著者は、これまでに本誌で様々な天然物の抗炎症作用について紹介してきた¹⁻⁴⁾。その中で「キノコの抗IV型アレルギー作用」と題した報告では、糖類の抗炎症作用について述べた。今回は、キノコに限らず、種々の糖類に関連する抗炎症作用について、著者のこれまでの研究成果を含めて概説する。なお、この報告の一部は、著者が東海大学古賀邦正教授、首都大学東京東直樹教授、名古屋女子大学佐野満昭教授、静岡県立大学宮瀬敏男教授、長野県農村工業研究所松澤恒友氏、池川哲郎氏、竹内正彦氏、長野農興株式会社田口計哉氏らとともに行った共同研究の成果を含むものである。

1. キノコおよびコメの高分子画分の接触皮膚炎抑制作用

ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*) のエタノール抽出残渣から、不溶性と水溶性の食物繊維の豊富な高分子多糖画分を調製した。得られた不溶性画分は、ブナシメジ乾燥重量の 65.0% (w/w) を占めており、分子量約 12,000 以上で、その糖含量とタンパク質含量は 53.0% (w/w) および 25.3% (w/w)、食物繊維含量は 62.6% (w/w)

w) であった。一方、水溶性画分は、ブナシメジ乾燥重量の 0.7% (w/w) を占め、その糖含量とタンパク質含量は 83.6% (w/w) および 16.4% (w/w) であった。これらの画分の接触皮膚炎抑制作用を、オキサゾロン誘発マウス耳介浮腫モデルを用いて検討した⁵⁾。オキサゾロンによるチャレンジ前の 3 日間、これらの画分

を 250 mg/kg 体重の投与量で経口投与したところ、既知の抗炎症剤であるハイドロコルチゾンよりは弱いものの、いずれも有意なマウス接触皮膚炎抑制作用を示した (図 1)。今回の実験で水溶性画分の調製に用いたのと同様の方法でカワリハラタケ (*Agaricus subrufescens*) から調製された画分には、可溶性 β -グルカンが多く含まれることが報告されている⁶⁾。また、マイタケ (*Grifola frondosa*) には不溶性と水溶性の β -グルカンが含まれることが知られている⁷⁾。 β -グルカンをはじめとするキノコの多糖には抗炎症作用^{8,9)}や抗酸化作用¹⁰⁾がある。ブナシメジにも、乾燥重量で約 15% (w/w) の抗腫瘍性 β -グルカンが含まれていることから^{11,12)}、今回用いた不溶性画分と水溶性画分にも難消化性の β -グルカンが含まれ、その接触皮膚炎抑制作用に寄与しているものと考えられる。ブナシメジを含む多くのキノコの代表的な β -グルカンは、 β -1,6-グルコシル分岐鎖を持つ β -1,3-グルカンであり、その分子量は 500,000-2,000,000 であることが知られている。今後、ブナシメジのこれらの画分に含まれる多糖の化学構造の詳細について検討する必要がある。

次に、コメ (*Oryza sativa*) の糖化液から、分子量約 14,000 以上の高分子画分を調製した。得られた画分は、コメ糖化液の 3.16% (w/v) を占め、その糖含量とタンパク質含量は 17.4% (w/w) および 51.2% (w/w) であった。オキサゾロンによるチャレンジの 1 時間前にこの画分を 790 mg/kg 体重の投与量で経口投与したところ、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が認められた (図 1)。エノキタケ (*Flammulina velutipes*) の Fve タンパク質¹⁴⁾や、キシメジ属 (*Tricholoma*) の糖タンパク質¹⁵⁾、フクロタケ (*Volvarellia volvacea*) の新規レクチン¹⁶⁾などは、過剰な免疫反応を抑制する作用があることが報告されている。また、レイシ (*Ganoderma lucidum*) のヘテログラクタン-タンパク質複

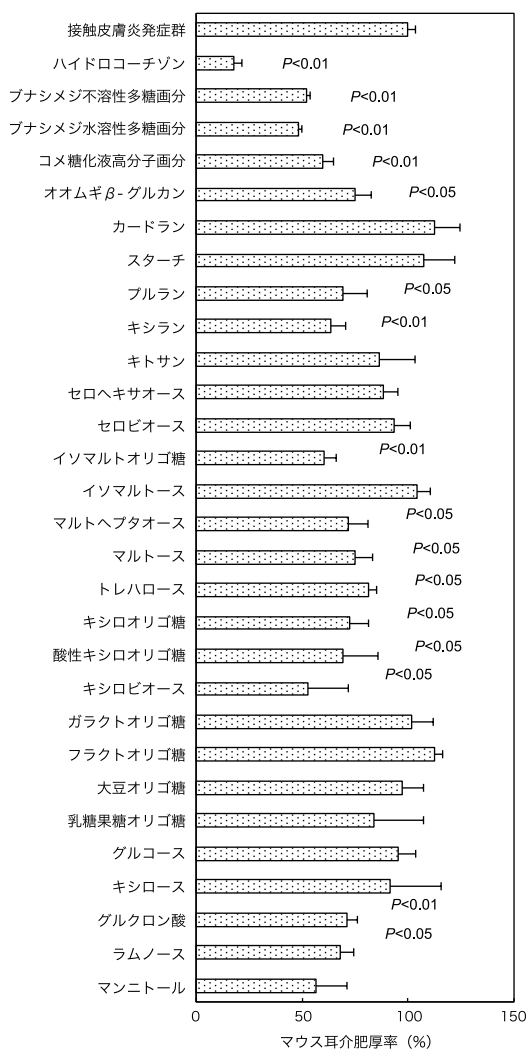


図 1 天然物の多糖画分および各種糖類のマウス接触皮膚炎抑制作用

経口投与量：200 mg/kg 体重 (ただし、ブナシメジ画分は 250 mg/kg 体重、コメ画分は 790 mg/kg 体重)
n=5. 平均土標準誤差. 図中に接触皮膚炎発症群との統計学的有意差を表示

合体¹⁷⁾に、抗炎症作用が認められている。コメの主な糖類であるスターチは、糖化によって約94%が低分子のグルコースやマルトースに変換されている。コメ糖化液の高分子画分中の有効成分としては、糖化を受けずに残った多糖、あるいはタンパク質やペプチド等であることが予想される。今後、コメ糖化液の高分子画分に含まれる接触皮膚炎抑制作用に寄与する成分の化学構造についても、さらに検討する必要がある。

2. 多糖およびオリゴ糖の抗接触皮膚炎作用

前項で示したように、天然物中の多糖や多糖-タンパク質複合体には、抗炎症作用や過剰な免疫反応を抑制する作用がある。そこで、ここでは糖類の化学構造とマウス接触皮膚炎抑制作用の関連性について比較、検討してみる(図1)。接触皮膚炎抑制作用の評価にはオキサゾロン誘発マウス耳介浮腫モデルを用い、各種糖類は200 mg/kg体重の投与量でオキサゾロンによるチャレンジ前の3日間経口投与した。耳介の肥厚率を測定することで、皮膚炎の程度を評価した。

まず多糖についてであるが、抗炎症作用を示すことが知られているキノコ由来の β -グルカンではないものの、市販のオオムギ(*Hordeum vulgare* L.)由来の β -グルカン(グルコースが β -1,3-結合または β -1,4-結合で重合した水溶性の直鎖グルカン)で、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が認められた⁵⁾。一方、グラム陰性桿菌である *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 由来の β -グルカンであるカードラン(分子量約90,000の不溶性直鎖 β -1,3-グルカン)は、200 mg/kg体重の経口投与では有意な効果は認められなかった⁵⁾。しかし、250 mg/kg体重の投与量では、カードランにも有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が確認できた⁵⁾。

次に、 α -グルカンについて見ると、代表的な易消化性の α -グルカンであるジャガイモ(*Solanum tuberosum* L.)由来のスターチ(α -1,6-グルコシル分岐鎖を持つ α -1,4-グルカンのアミロペクチン75-80%と、直鎖 α -1,4-グルカン構造を持つアミロース20-25%との混合物)には、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用は認められなかった¹⁸⁾。しかし、黒色酵母である *Aureobasidium pullulans* 由来の α -グルカンであるプルラン(マルトトリオースが α -1,6-結合で重合した線状構造を持つ水溶性の α -グルカン)には、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が見られた⁵⁾。プルランは、アミロペクチンに類似の化学構造を持つが、アミロペクチンよりもマルトトリオースとその分岐が規則正しく繰り返される。プルランは、体内酵素による消化試験あるいはラットにおける成長試験の結果から、セルロースやペクチン等と同様に難消化性の多糖とされている¹⁹⁾。従って、 α -グルカンであっても、 β -グルカンのように難消化性の多糖の場合には抗炎症作用を示す可能性がある。

グルカン以外の多糖としては、オート麦(*Avena sativa*)由来のキシラン(β -1,4-結合で重合したキシロースの主鎖に、アラビノフラノースやグルクロン酸を含む種々の側鎖を持つヘテロ糖)の経口投与で、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が認められた²⁰⁾。オート麦由来のキシランはアラビノキシランとして存在することが知られている。カニガラ由来のキトサン(グルコサミンが β -1,4-結合で重合した直鎖の多糖で脱アセチル化率は約80%のもの)についても検討したが、経口投与では有意なマウス接触皮膚炎抑制作用は認められなかった¹⁸⁾。

これらの多糖の化学構造や物性とマウス接触皮膚炎抑制作用との関係、および糖類のサイズとそのマウス接触皮膚炎抑制作用との関係を検討するため、各種オリゴ糖の同作用を測定した(図1)。直鎖の β -グルコオリゴ糖であるセロ

ヘキサオース（純度 95% 以上）およびセロビオース（純度 95% 以上）には、有意なマウス接触皮膚炎抑制作用は見られなかった。多糖の β -グルカンの場合、オオムギの水溶性 β -グルカンには効果があり、不溶性のカードランには効果がなかったことを考え合わせると、不溶性で消化が極めて困難なグルコースの β -グルコシド結合による重合体では、マウス接触皮膚炎抑制作用は発揮されないものと考えられる。

α -グルコオリゴ糖としては、トウモロコシ (*Zea mays*) 由来のイソマルトオリゴ糖（直鎖 α -1,6-グルカンの構造を持つオリゴ糖，糖度 75%，組成：グルコース 3%，イソマルトース 33%，イソマルトリオース 14%，その他の糖 50%）の経口投与では有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が見られたものの、イソマルトース（純度 99%， α -1,6-グルカンの構造を持つ二糖）には効果が認められなかった¹⁸⁾。また、マルトヘプタオース（純度 98.5%，直鎖 α -1,4-グルカンの構造を持つ七糖）およびマルトース（純度 98% 以上， α -1,4-グルカンの構造を持つ二糖）の経口投与では、それぞれ有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が見られた¹⁸⁾。キノコ等に見出されるトレハロース（純度 98% 以上， α -1,1-または β -1,1-グルカンの構造を持つ二糖）も、他の糖類に比較して弱いものの有意な効果が見られた²¹⁾。200 mg/kg 体重という経口投与量は、体重 60 kg のヒトに換算すると 12g に相当し、これは、機能性食品としてのイソマルトオリゴ糖の 1 日摂取目安量である 16g とほぼ同程度である。従って、日常の食事でこれらのオリゴ糖を摂取することは、接触皮膚炎の予防に有効であることが期待できる。

キシランに関連するオリゴ糖としては、トウモロコシ由来のキシロオリゴ糖（純度 43.3%，キシロビオースが主成分で単糖を 5% 含むもの）、トウモロコシ由来の酸性キシロオリゴ糖（水溶性でオリゴマー含量は 83.7%，組成：グ

ルクロノキシロース 4.3%，グルクロノキシロビオース 17.1%，グルクロノキシロトリオース 34.0%，グルクロノキシロテトラオース 28.8%，グルクロノキシロオリゴマーの 5 量体以上のもの 3.8%），キシロビオース（純度 99% 以上， β -1,4-キシランの構造を持つ二糖）は、いずれも経口投与で有意なマウス接触皮膚炎抑制作用を示した²⁰⁾。

グルコオリゴ糖およびキシロオリゴ糖以外のオリゴ糖としては、牛乳由来のガラクトオリゴ糖（純度 55% 以上，残りは単糖，通常は 4'-ガラクトシルラクトースのような三糖が主成分），サトウキビ (*Saccharum officinarum*) 由来のフラクトオリゴ糖（純度 55% 以上，残りは単糖＋スクロース，通常はスクロースに 1～3 個のフラクトースが結合したものが主成分），ダイズ (*Glycine max*) 由来の大豆オリゴ糖（糖度 76%，ガラクトオリゴ糖の一種，組成：スタキオース 18%，ラフィノース 8%，スクロース 20%，フラクトース・グルコース・ビニトール・マンニトリオース・メリビオース・ガラクトビニトール 30%），さらにはサトウキビおよび牛乳由来の乳糖果糖オリゴ糖（ラクトスクロース，純度 35% 以上，ガラクトース・グルコース・フラクトースからなる三糖）についても、その経口投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用を検討した。これらのオリゴ糖は、キシロオリゴ糖と同様に難消化性であるが、キシロオリゴ糖とは異なりいずれも有意な効果は見られなかった¹⁸⁾。

最後に、これらの多糖やオリゴ糖を構成する単糖およびその他の糖類についてであるが、まず、グルカンを構成する D(+)-グルコース（純度 98% 以上）の経口投与では有意なマウス接触皮膚炎抑制作用は見られなかった¹⁸⁾（図 1）。また、キシランの構成単糖である D(+)-キシロース（純度 99% 以上）にも有意な効果は見られなかったが、D-グルクロン酸（純度 97%）

では有意な効果が認められた²⁰⁾。天然物配糖体の構成糖として見られるデオキシ糖の一種である α -L(+)-ラムノース、キノコ等に見出される糖アルコールの一種であるD(-)-マンニトール(純度99%以上)にも、同様に有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が認められた²¹⁾。

一般に、食物繊維や難消化性オリゴ糖には、腸内のビフィドバクテリウム属等の有用細菌の増殖と整腸作用に関連すると考えられる免疫調節作用や抗炎症作用があることが知られている²²⁾。今回報告した糖類の中でも、キノコの β -グルカン⁹⁾、マルトオリゴ糖やイソマルトオリゴ糖^{23, 24)}、キシランや酸性キシラン²⁵⁻²⁷⁾、キシロオリゴ糖²⁸⁾等に同様の作用に関する報告がある。単糖であるグルコースとキシロースにはマウス接触皮膚炎抑制作用は認められなかったが、そのオリゴ糖や多糖の多くには効果が見られた。しかし、グルコースの重合体の場合には、その重合の仕方によっては難消化性食物繊維と呼ばれるものでも効果が見られないことがあった。ヒトの腸内乳酸菌では腸下部のビフィドバクテリウム属が多いのに対し、マウスでは腸上部のラクトバチルス属が多いとされていることもあり、糖類の種類と腸内細菌のバランス、さらには抗炎症作用を含む免疫調節作用との関連性は複雑で、そのメカニズムの解明のための検討がさらに必要と考えられる。

糖類の抗炎症作用に関しては、腸を介した免疫系への効果とともに、炎症時に活性化されたマクロファージにより過剰産生される O_2^- やNOといった活性酸素による周囲の組織の傷害を抑制する抗酸化作用も寄与している可能性がある。このような抗酸化作用は、マンニトール²⁹⁾やトレハロース³⁰⁾、アガロオリゴ糖³¹⁾などで報告されている。

3. 多糖およびオリゴ糖の胃炎抑制作用

著者は、糖類のマウス接触皮膚炎抑制作用とともに、糖類のマウス胃炎抑制作用についてもこれまでに検討してきた。胃炎抑制作用の評価には寒冷拘束ストレス誘発マウス胃炎モデルを用い、4℃、90分間の寒冷拘束ストレス負荷を行う直前に、各種糖類を100 mg/kg体重の投与量で経口投与した。胃壁の出血点数を測定することで、胃炎の程度を評価した(図2)。

既知のステロイド系抗炎症剤であるハイドロコルチゾンの経口投与は、有意なマウス胃炎抑

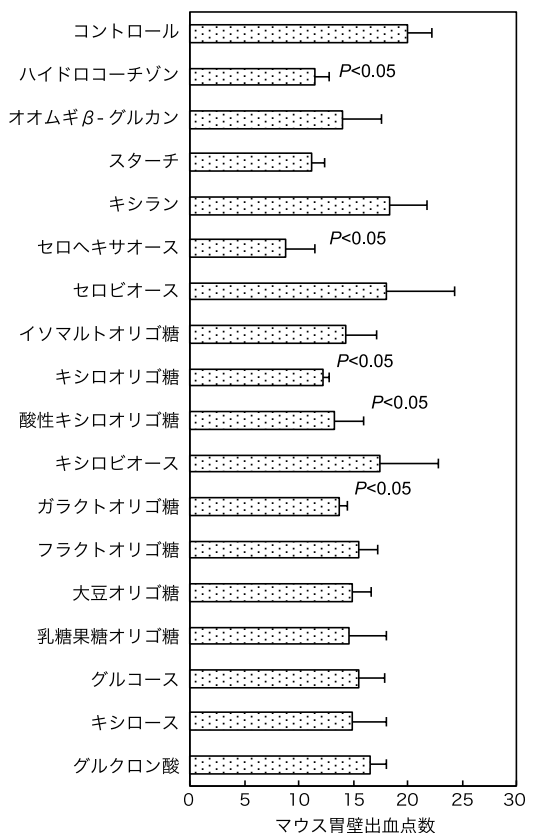


図2 各種糖類のマウス寒冷拘束ストレス誘発胃炎抑制作用

経口投与量：100 mg/kg 体重。n=4。平均±標準誤差。
図中に胃炎発症群との統計学的有意差を表示

制作用を示した³²⁾。しかし、多糖であるオオムギ由来の β -グルカン、オート麦由来のキシラン³²⁾、ジャガイモ由来のスターチの経口投与は、マウス胃炎抑制作用を示さなかった。

オリゴ糖では、 β -グルコオリゴ糖であるセロヘキサオースとセロビオースの経口投与のうち、セロヘキサオースのみに有意なマウス胃炎抑制作用が見られた。 α -グルコオリゴ糖であるトウモロコシ由来のイソマルトオリゴ糖の経口投与では、有意な効果は認められなかった。キシランの構成オリゴ糖であるトウモロコシ由来のキシロオリゴ糖および酸性キシロオリゴ糖の経口投与では有意な効果が見られたが、キシロビオースの経口投与では有意な効果は認められなかった³²⁾。牛乳由来のガラクトオリゴ糖、サトウキビ由来のフラクトオリゴ糖、ダイズ由来の大豆オリゴ糖、サトウキビおよび牛乳由来の乳糖果糖オリゴ糖の経口投与では、ガラクトオリゴ糖のみで有意な効果が見られた。

単糖については、グルコース、キシロース、グルクロン酸の経口投与のいずれにおいても、有意なマウス胃炎抑制作用は見られなかった³²⁾。

従って、寒冷拘束ストレスによるマウス胃炎に対しては、検討したすべての多糖および単糖で抑制効果が見られず、オリゴ糖の一部で抑制効果が見られた。オリゴ糖の中では、二糖あるいは二糖の含量が高いものでは有意な効果が見

られず、それ以上の重合度を持つことが予想されるオリゴ糖に有意な効果が見られた。また、オリゴ糖の種類により、マウス胃炎抑制作用を示さないものもあった。これらの結果から、糖類の胃炎に対する抑制作用に関しては接触皮膚炎の場合と異なり、免疫系による炎症反応の抑制作用よりも、直接に胃粘膜表面を胃酸や胃消化液等から保護する作用の寄与が大きく、その作用には中間的な重合度の大きさの分子が適しているものと考えられる。ただし、分子の大きさだけでなく、その構成糖や重合の様式も重要であるものと思われる。ところで、カバノキ (Betulaceae) のキシランから調製した酸性キシロオリゴ糖には、胃炎の一因とされる *Helicobacter pylori* に対する抗菌作用があることが報告されており、直接的な胃粘膜保護作用以外のメカニズムが機能している可能性もある³³⁾。

4. 多糖およびオリゴ糖の抗酸化作用

前々項において、糖類の抗炎症作用のメカニズムにその抗酸化作用が関与している可能性を示した。そこで、これらの糖類のうち、接触皮膚炎およびストレス性胃炎のどちらにも効果のあったキシロオリゴ糖と酸性キシロオリゴ糖について *in vitro* における抗酸化作用を検討した (表 1)。抗酸化作用の評価法としては、 α, α' -

表 1 キシロオリゴ糖および酸性キシロオリゴ糖の抗酸化作用

FeCl ₃ 還元作用 (a,a'-ジピリジル法)	EC ₅₀ 値 (mg/mL)
キシロオリゴ糖	826.2
酸性キシロオリゴ糖	311.6
EGCg	0.037
クエルセチン	0.0093
アスコルビン酸	0.081
O ₂ ⁻ 捕捉作用 (PMS-NBT 法)	EC ₅₀ 値 (mg/mL)
キシロオリゴ糖	20 <
酸性キシロオリゴ糖	3.1
EGCg	0.0043
クエルセチン	0.018

ジビリジル法による Fe^{3+} の還元作用およびフェナジンメトスルフェート-ニトロブルー-テトラゾリウム (PMS-NBT) 法による $\text{O}_2^{\cdot-}$ 捕捉作用を用い、既知の天然抗酸化剤である緑茶カテキンの (-)-エピガロカテキンガレート (EGCg) やフラボノイドのクエルセチン等の効果と比較した。その結果、EGCg やクエルセチンに比較するとかなり弱いものの、これらの糖類にも抗酸化作用があることがわかった^{32, 34)}。特に、酸性キシロオリゴ糖には、キシロオリゴ糖に比較して強い抗酸化作用が見られた。

次に、ブナシメジの不溶性と水溶性の高分子多糖画分の、接触皮膚炎モデルマウスでの *in vivo* における抗酸化作用について検討した結果を示す。マウスの血清の抗酸化力をマウス脳自動酸化法を用いて測定したところ、健常マウス

に比較して接触皮膚炎を発症したマウスの血清抗酸化力は低下していた (図3)。しかし、ブナシメジの不溶性と水溶性の高分子多糖画分を 250 mg/kg 体重の投与量で経口投与し、接触皮膚炎を抑制させたマウスの血清では、血清の抗酸化力の低下が抑制される傾向が見られた。その効果は、水溶性の高分子多糖画分により強かった。このようなキノコの *in vivo* における抗酸化作用は、これまでに担癌マウスにおけるブナシメジの摂取^{35, 36)} やコレステロール食飼育ラットにおけるヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) の摂取³⁷⁾ などでも報告されている。糖類や天然多糖画分の示す接触皮膚炎抑制作用には、その抗酸化作用が一部寄与しているものと考えられる。

おわりに

多糖やオリゴ糖は、その整腸作用により特定保健用食品の中でも最も許可品目の多いグループの一つである。しかし、その生物活性のメカニズムについては、動物の腸管内の細菌叢や免疫系が関連するため複雑であり、十分に解明されていない面がある。今回紹介した多糖やオリゴ糖の示す抗炎症作用についても、多分に腸管免疫系を介したメカニズムが予想されるが、その詳細な検討はこれからの課題である。また、難消化性の多糖やオリゴ糖を、その整腸作用や抗炎症作用などを期待して摂取する場合、過剰な摂取による下痢を引き起こさないよう注意する必要がある。

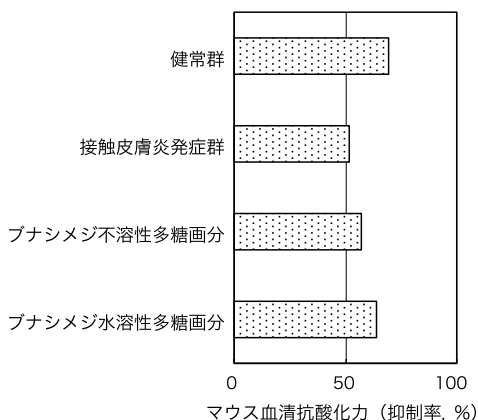


図3 接触皮膚炎マウスの血清抗酸化力に対するブナシメジ多糖画分の影響

経口投与量: 250 mg/kg 体重. n=5. マウス脳自動酸化法

参考文献

- 1) 芳野 恭士: コタラヒムブツの多様な保健作用. *New Food Industry*, **52**: 33-42, 2010.
- 2) 芳野 恭士: 茶カテキン類の抗アレルギー作用. *New Food Industry*, **54**: 15-24, 2012.
- 3) 芳野 恭士: カンキツ類の保健作用. *New Food Industry*, **54**: 20-30, 2012.
- 4) 芳野 恭士: キノコの抗IV型アレルギー作用. *New Food Industry*, **54**: 10-18, 2012.
- 5) 芳野 恭士, 小澤 浩一, 米山 智亮, 他: ブナシメジ多糖画分および各種グルカンのマウス接触皮膚炎抑制作用. *J. Technol. Educ.* **16**: 1-7, 2009.

- 6) K. Oshiman, Y. Fujimiya, T. Ebina, *et al.*: Orally administered β -1,6-D-polyglucose extracted from *Agaricus blazei* results in tumor regression in tumor-bearing mice. *Planta Med.* **68** : 610-614, 2002.
- 7) T. Mizuno, K. Ohsawa, N. Hagiwara, *et al.*: Fractionation and characterization of antitumor polysaccharides from maitake, *Grifola frondosa*, *Agric. Biol. Chem.* **50**: 1679-1688, 1986.
- 8) S. Ukai, T. Kiho, C. Hara, *et al.*: Polysaccharides in fungi. XIV. Anti-inflammatory effect of the polysaccharides from the fruit bodies of several fungi. *J. Pharmacobiodyn.* **6**: 983-990, 1983.
- 9) 水野 卓, 富田 勲:健康情報調査報告書. キノコ類, 健康・体力づくり事業団, 保健同人社, 東京, p.55, 1987.
- 10) F. Liu, V. E. C. Ooi, S. T. Chang: Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci.* **60**: 763-771, 1997.
- 11) T. Ikekawa, H. Saitoh, W. Feng, *et al.*: Antitumor activity of *Hypsizygus marmoreus*. I. Antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 1954-1957, 1992.
- 12) M. Motoi, S. Goto, N. Ohno: Structure and antitumor activity of 1,3- β -glucan from cultivated fruit bodies of culinary-medicinal mushroom *Hypsizygus marmoreus* (Peck) Bigel. (Agaricomycetideae). *Int. J. Med. Mush.* **5**: 247-259, 2003.
- 13) K. Yoshino, T. Miyase, M. Takeuchi, *et al.*: Preventive effects of saccharified solution of rice, *Oryza sativa* subsp. *japonica*, in mouse allergic models. *J. Health Sci.* **56**: 208-214, 2010.
- 14) S. V. Seow, I. C. Kuo, P. Paaventhana, *et al.*: Crystallization and preliminary X-ray crystallographic studies on the fungal immunomodulatory protein Fve from the golden needle mushroom (*Flammulina velutipes*). *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* **59**: 1487-1489, 2003.
- 15) H. X. Wang, W. K. Liu, T. B. Ng, *et al.*: Immunomodulatory and antitumor activities of a polysaccharide-peptide complex from a mycelial culture of *Tricholoma* sp., a local edible mushroom. *Life Sci.* **57**: 269-281, 1995.
- 16) Q.-B. She, T.-B. Ng, W.-K. Liu: A novel lectin with potent immunomodulatory activity isolated from both fruiting bodies and cultured mycelia of the edible mushroom *Volvariella volvacea*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **247**: 106-111, 1998.
- 17) C. Hara, T. Kiho, Y. Tanaka, *et al.*: Anti-inflammatory activity and conformational behavior of a branched (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan from an alkaline extract of *Dictyophora indusiata* Fisch. *Carbohydr. Res.* **110**: 77-87, 1982.
- 18) 芳野 恭士, 小川 健二郎, 高橋 亘, 他: オリゴ糖の抗接触過敏症作用に関する研究. *J. Technol. Educ.* **11**: 37-41, 2004.
- 19) 岡田 勝秀, 米山 勝, 万代 隆彦, 他: プルランの消化性と発酵性. 日本栄養・食糧学会誌 **43**: 23-29, 1990.
- 20) K. Yoshino, N. Higashi, K. Koga : Preventive effects of acidic xylooligosaccharide on contact hypersensitivity in mice. *J. Health Sci.* **52**: 628-632, 2006.
- 21) K. Yoshino, Y. Kondou, K. Ishiyama, *et al.*: Preventive effects of 80% ethanol extracts of the edible mushroom *Hypsizygus marmoreus* on mouse type IV allergy. *J. Health Sci.* **54**: 76-80, 2008.
- 22) 谷口 肇:機能性オリゴ糖. *medicina* **39**: 275-277, 2002.
- 23) 菅原 正義, 竹内 政保, 中久喜 輝夫, 他: マルトテトラオース (G4) 含有シラップのヒト腸内フローラに及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 **42**: 123-127, 1989.
- 24) T. Kohmoto, F. Fukui, H. Takaku, *et al.*: Does-response test of isomaltooligosaccharides for increasing fecal Bifidobacteria. *Agri. Biol. Chem.* **55**: 2157-2159, 1991.
- 25) R. L. Whistler, A. Bushway, P. P. Singh, *et al.*: Noncytotoxic, antitumor polysaccharides. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **32**: 235-275, 1976.
- 26) H. Yamada, T. Nagai, J.-C. Cyong, *et al.*: Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysaccharides. *Carbohydr. Res.* **144**: 101-111, 1985.
- 27) A. B. Samuelsen, B. S. Paulsen, J. K. Wold, *et al.*: Isolation and partial characterization of biologically active polysaccharides from *Plantago major* L. *Phytother. Res.* **9**: 211-218, 1995.
- 28) 岡崎 昌子, 好田 祐史, 泉 玲子, 他: キシロビオースの消化性と体内利用性. 日本栄養・食糧学会誌 **44**: 41-44, 1991.
- 29) 神宮 政男, 轟木 峻, 織部 元宏, 他: 活性酸素による炎症とその機序に関する検討. 炎症 **2**: 367-368, 1982.

- 30) K. Oku, H. Watanabe, M. Kubota, *et al.*: NMR and quantum chemical study on the OH · · · π and CH · · · O interactions between trehalose and unsaturated fatty acids. Implication for the mechanism of antioxidant function of trehalose. *J. Am. Chem. Soc.* **125**: 12739-12748, 2003.
- 31) 加藤 郁之進: アガロオリゴの抗酸化活性と腫瘍抑制活性, 月刊バイオインダストリー 8月号: 13-19, 2000.
- 32) K. Yoshino, N. Higashi, K. Koga: Inhibitory effects of acidic xylooligosaccharide on stress-induced gastric inflammation in mice. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **47**: 284-287, 2006.
- 33) P. Christakopoulos, P. Katapodis, E. Kalogeris, *et al.*: Antimicrobial activity of acidic xylo-oligosaccharides produced by family 10 and 11 endoxylanases. *Int. J. Biol. Macromol.* **31**: 171-175, 2003.
- 34) K. Yoshino, N. Higashi, K. Koga: Antioxidant activities of acidic xylooligosaccharide. *Numazu Coll. Tech. Res. Ann.* **41**: 103-105, 2007.
- 35) 松沢 恒友, 佐野 満昭, 富田 勲, 他: ブナシメジの抗酸化作用に関する研究 (第1報) ブナシメジ摂取マウス血漿の抗酸化活性. 薬学雑誌 **117**: 623-628, 1997.
- 36) 松澤 恒友, 斎藤 英晴, 佐野 満昭, 他: ブナシメジの抗酸化作用に関する研究 (第2報) ブナシメジ摂取担癌マウス血漿の抗酸化活性. 薬学雑誌 **118**: 476-481, 1998.
- 37) P. Bobek, Ľ. Ozdín, Ľ. Kuniak: Effect of oyster mushroom and isolated β -glucan on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in rats fed the cholesterol diet. *J. Nutr. Biochem.* **8**: 469-471, 1997.

組成や形状の異なる塩を用いて製造した 発酵ソーセージの品質特性、 特にスターター菌の違いについて

船津 保浩 (FUNATSU Yasuhiro) *¹ 川上 誠 (KAWAKAMI Makoto) *² 徳山 武宏 (TOKUYAMA Takehiro) *¹ 酒井 彩 (SAKAI Aya) *¹ 谷口 亮輔 (TANIGUCHI Ryosuke) *¹ 岩崎 智仁 (IWASAKI Tomohito) *¹ 石下 真人 (ISHOROSHI Makoto) *¹ 山本 克博 (YAMAMOTO Katsuhiko) *¹

*¹ 酪農学園大学 食品科学科, *² 地方独立行政法人 北海道総合研究機構食品加工研究センター

Key Words: 塩・発酵ソーセージ・品質・スターター

はじめに

日本で流通しているサラミは、非加熱の発酵ソーセージと加熱後乾燥して製造される珍味に近い乾燥品に分けられる。国内生産量は後者が圧倒的に多く、前者は少ないのが現状である¹⁾。

発酵ソーセージの製造が盛んなヨーロッパでは、発酵ソーセージを製造する際の製造工程で岩塩や海塩が添加されている。この中で岩塩は大部分が塩化ナトリウムであるが、採集地により微量の無機成分の組成が異なり、亜鉛等の微量金属も含まれていることから発色効果があるという報告も一部でみられる。また、発酵ソーセージの風味は原料の配合条件や熟成条件などでも異なる。特にスターターに用いる菌は、無機成分の組成により生育条件も影響を受けることから、最終製品の酸味やフレーバー等の風味醸成に大きく関わると考えられる。しかし、塩の組成や形状の違いが発酵ソーセージの風味に与える影響についての研究例はほとんどない。

本稿では、産地が異なる塩を用いて発酵ソーセージを調製し、塩の成分や形状の違いが製品の製造工程中の品質に与える影響について調査したのでご紹介する。

1. 材料と方法

1-1. 原材料

豚ウデ肉は、ホクレン（株）より購入した。実験開始まで -20℃ で凍結保管した。実験に使用した岩塩は、いずれも市販品でヒマラヤ産（カオス（株））、モンゴル産（アリマジャパン（株））、中国（四川省）産（白松（株））、パキスタン産（（有）FAR EAST RS）、アメリカ（テキサス州）産（赤穂あらなみ塩（株））、イタリア（シチリア）産（（株）シー・アイ・オージャパン）、ボリビア産（（株）あがりび）およびドイツ産（赤穂あらなみ塩（株））である。これらの中で粒形が大きいものは岩塩ミルで粉碎して用いた。

1-2. スターター菌の選抜

市販発酵ソーセージ 17 種類を購入し、食肉製品の専門家 5 名で評点法により外観、色沢、肉質、熟成風味、香辛料、バランスおよび受容性で評価した。その結果、上位 5 種類から下記の菌が検出された。それらの菌は *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*,

Staphylococcus carnosus, *Staphylococcus xylosus* および *Debaryomyces hansenii* であった。いずれもスターター菌であったため、本研究では酸生成菌である *Pediococcus pentosaceus* (PC-1 株, Flora Cam) とフレーバー生成菌である *Staphylococcus xylosus* (DD-34 株, Flora Cam) を使用した。

1-3. 岩塩の選定

無機塩類を取り除いた GYP 液体培地にそれぞれの塩を 3% 添加し、スターター菌の *P. pentosaceus* および *S. xylosus* を 10^3 cfu/ml 添加、25℃、20 時間培養後の液体培地の濁度からスターター菌の増殖性の高かった上記 1-1 の 2 種類の岩塩（ポリビア産およびドイツ産）を選定した。

1-4. 原材料の配合と熟成方法

冷凍豚ウデ肉を冷蔵（4℃）で 3 日間解凍後、切断し、赤身肉と脂肪を 4:1 に分け、チョッパー（ミンサー I 型, fatosa）を用いてそれぞれ挽肉（4 mm 角）とした。この挽肉の重量に対して、乳糖 0.6%, ブドウ糖 0.3%, 硝精 S（第一化成）0.14%, 砂糖 0.2% および塩 2.5% を加えてよく混合した。なお、塩には食塩（財団法人塩事業センター）、ポリビア産岩塩およびドイツ産岩塩を使用した。スターター菌は、*P. pentosaceus* および *S. xylosus* を用い、それぞれ 3L タンクで 25℃、72 時間培養後、遠心分離し、得られた沈殿を滅菌生理食塩水で 300 ml に定容した。これらの菌液 30 mL を混合肉 500 g に加え、滅菌スパチュラでよく攪拌した（PP 添加区および SX 添加区）。なお、PP と SX 各 15 mL を、混合肉 500 g に添加したものを混合区とし、菌液の代わりに滅菌生理食塩水 30 mL を添加したものを対照区とした。これら 4 種類の試料を絞りに袋に入れ、直径約 4 cm の人工ケーシング（TIPPER TIE, TIPPER Clip）に充填後、恒温恒湿器（KCL-2000A 型, 東京理化）で 21 日間熟成させた。熟成条件は表 1 のとおりである。

表 1 発酵ソーセージ熟成中の温度と湿度

日	温度 (℃)	湿度 (%)
1	20	95
2	20	93
3	20	91
4	20	88
5	20	86
6	18	83
7	18	80
8	17	75
・	・	・
・	・	・
21-28	17	75

1-5. 乳酸菌数の測定と菌叢の解析

試料の乳酸菌数は GYP 白亜寒天培地にサンプル希釈液を 0.1 mL 表面塗抹し、25℃で 72 時間培養後に計測した。菌の同定は定法に準じて行った。すなわち、各プレートから代表的なコロニーを 5 コロニー分離し、それぞれのコロニーから DNA を抽出、16S リボゾーム RNA 遺伝子（約 1500 bp）の 5' 側末端から約 500 bp をサーマルサイクラーによって増幅し、その塩基配列を決定後、データベースと照合してコロニーの同定を行った。ただし、酵母の場合は 28S リボゾーム RNA 遺伝子を増幅し、上記と同様の方法で同定した。

2. 結果

2-1. 塩の形状および組成

塩の形状と組成を図 1 と表 2 にそれぞれ示す。光学顕微鏡観察では食塩は立方体に近い形状で大きさが約 320 ~ 440 μm であった [図 1 (a)]。これに対してポリビア産岩塩は分布範囲がかなり大きく、大きさは約 20 ~ 640 μm であるが、ドイツ産岩塩は約 30 ~ 240 μm とポリビア産に比べて分布範囲が狭かった [図 1 (b) と (c)]。原子吸光法²⁾ による組成分析では食塩は Zn, Mn, Cu, Fe が検出されないが、ポリビア産岩塩ではそれらが微量検出され、ドイツ

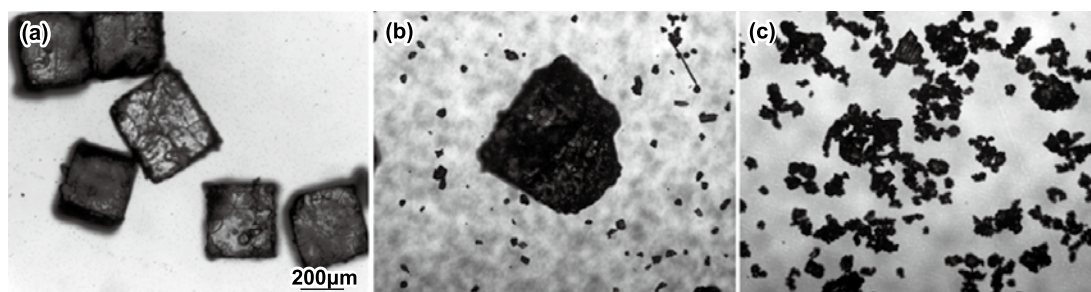


図1 塩の形状

(a)：食塩，(b)：ボリビア産岩塩，(c)：ドイツ産岩塩

表2 塩の無機成分

	(mg/100g)		
	食塩	ボリビア産岩塩	ドイツ産岩塩
Ca	11.4	176.0	0.9
Mg	11.1	29.9	0.9
K	74.5	157.7	113.2
Zn	ND	0.05	0.004
Mn	ND	0.021	ND
Cu	ND	0.022	ND
Fe	ND	0.022	ND

ND：検出されず

産岩塩は Mn, Cu, Fe は検出されなかった（表2）。また，食塩の Ca 量はボリビア産岩塩のそれ約 0.6 倍，ドイツ産岩塩のそれの約 13 倍であった。

2-2. 発酵ソーセージ熟成中の化学成分およびエキス成分の変化

まず，熟成中の各種発酵ソーセージの塩分³⁾，亜硝酸根⁴⁾ および水分活性 (A_w) の変化を調べた（図2）。その結果，いずれの試料でも発酵中の塩分増加および亜硝酸根と A_w の減少がみられ，塩の違いや菌添加の有無ではこれらの成分に大きな違いはみられなかった。また，いずれの試料でも熟成 21 日後には亜硝酸根が 5 ppm 以下， A_w が 0.87 未満に低下していた。

川崎らの方法⁵⁾ に準じて熟成中の各種発酵ソーセージの成分の中で遊離アミノ酸総量，アデノシン -5'-1 リン酸 (AMP) 量およびイノシ

ン -5'-1 リン酸 (IMP) 量の変化を調査した。その結果を図3に示す。いずれ試料でも遊離アミノ酸総量は熟成中に増加したが，熟成 9 日までの増加はいずれの塩でも PP 添加区で大きい傾向であった。AMP 量は熟成中の大きな変化はみられず，熟成 21 日後はいずれの試料でも僅少であった。また，IMP 量の熟成中の低下度合いは塩の種類

の違いでやや異なったが，熟成 21 日後はいずれの試料でも僅少であった。

熟成中の各種発酵ソーセージの pH と TBA 値⁶⁾ の変化を図4に示す。pH の場合[(a), (b), (c)]，いずれの試料でも熟成中に低下がみられたが，その低下の度合いは PP 添加区と混合区の方が対照区や SX 添加区よりも大きかった。この現象は酵素法による L-乳酸の生成量⁷⁾ と対応していた（結果は図示せず）。

熟成中の発酵ソーセージの脂質酸化の変化を図4 [(d), (e), (f)] に示す。いずれの試料でも熟成中に TBA 値は増加するが，PP 添加区で大きく，特に食塩の PP 添加区の TBA 値の増加は岩塩のそれに比べて顕著であり，可食限界値 (0.5) を超えるレベルであった。なお，この値は吸光度とマロンアルデヒド量との検量線から試料 1kg 当たり 12.5 mg MD に相当するレベルであった。

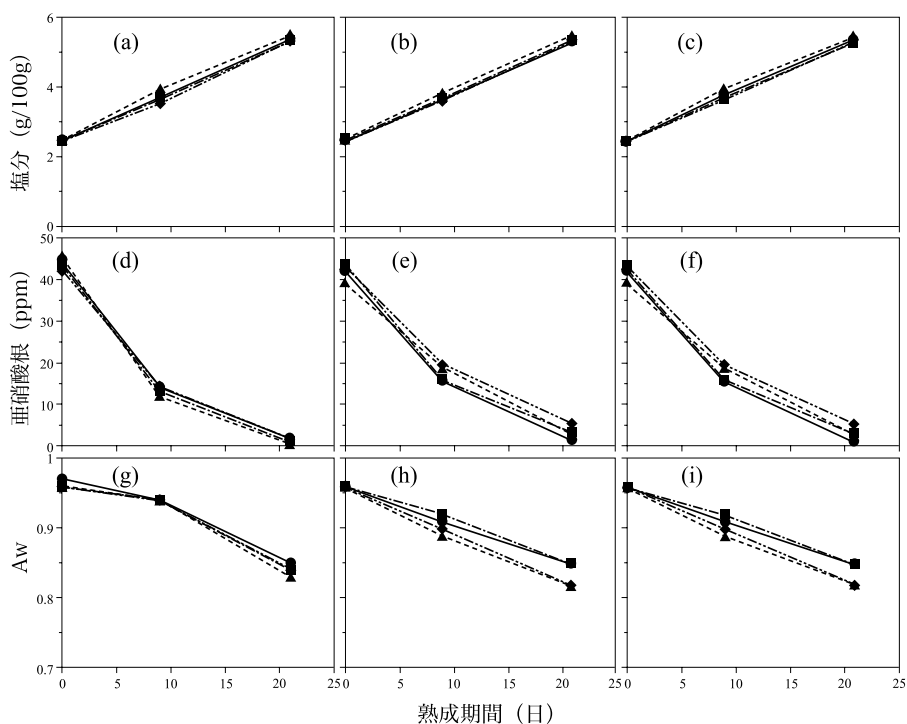


図2 各種発酵ソーセージ熟成中の塩分、亜硝酸根およびAwの変化

(a), (d), (g) : 食塩 (a), (b), (c) : 塩分
 (b), (e), (h) : ボリビア産岩塩 (d), (e), (f) : 亜硝酸根
 (c), (f), (i) : ドイツ産岩塩 (g), (h), (i) : Aw

—●— : 対照, —▲— : PP, —■— : SX, —◆— : 混合

対照 : スターター菌を用いずに製造した発酵ソーセージ

PP : *Pediococcus pentosaceus* をスターター菌に用いて製造した発酵ソーセージ

SX : *Staphylococcus xylosus* をスターター菌に用いて製造した発酵ソーセージ

混合 : *P. pentosaceus* および *S. xylosus* をスターター菌に用いて製造した発酵ソーセージ

2-3. 発酵ソーセージ熟成中のタンパク質成分組成の変化

各種発酵ソーセージ熟成中のタンパク質成分組成の変化を図5に示す。SDS-PAGE⁸⁾ パターンをみると、いずれの試料でも塩にかかわらず熟成中のタンパク質成分組成に変化がみられたが、特に熟成が進行した9および21日後のPP添加区と混合区の試料ではいずれの塩でもミオシン重鎖(MHC)やアクチン(A)の染色強度の著しい低下やアクチンよりも低分子量成分のバンドがみられた。

2-4. 発酵ソーセージ熟成中の乳酸菌数の変化

各種発酵ソーセージ熟成中の乳酸菌数の変化を図6に示す。食塩添加区では、熟成時間の進行に伴い対照区は緩やかな増加、SX添加区は9日後に一度増加し、21日後に低下する傾向が示されたが、PP添加区と混合区では熟成中の低下がみられた。一方、岩塩添加区では対照区とSX添加区の熟成中の変化がやや異なる以外は類似しており、ボリビア産岩塩とドイツ産岩塩ではPP添加区と混合区の熟成中の低下速度が前者は後者に比べやや遅い点を除いては類似

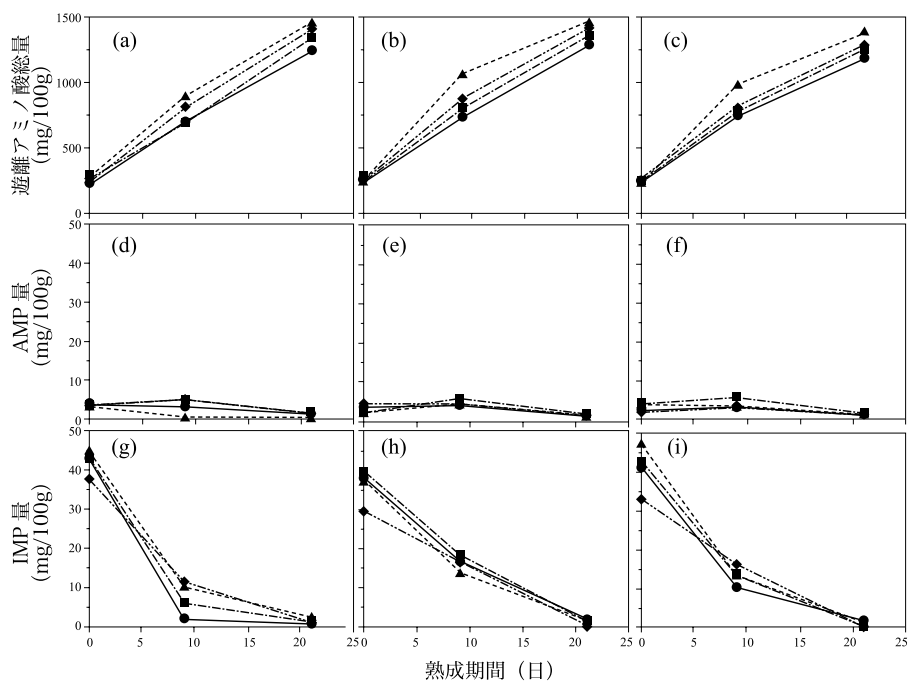


図3 各種発酵ソーセージ熟成中の遊離アミノ酸総量、AMP量およびIMP量の変化

(a), (d), (g) : 食塩
(b), (e), (h) : ボリビア産岩塩
(c), (f), (i) : ドイツ産岩塩
(a), (b), (c) : 遊離アミノ酸総量
(d), (e), (f) : AMP量
(g), (h), (i) : IMP量

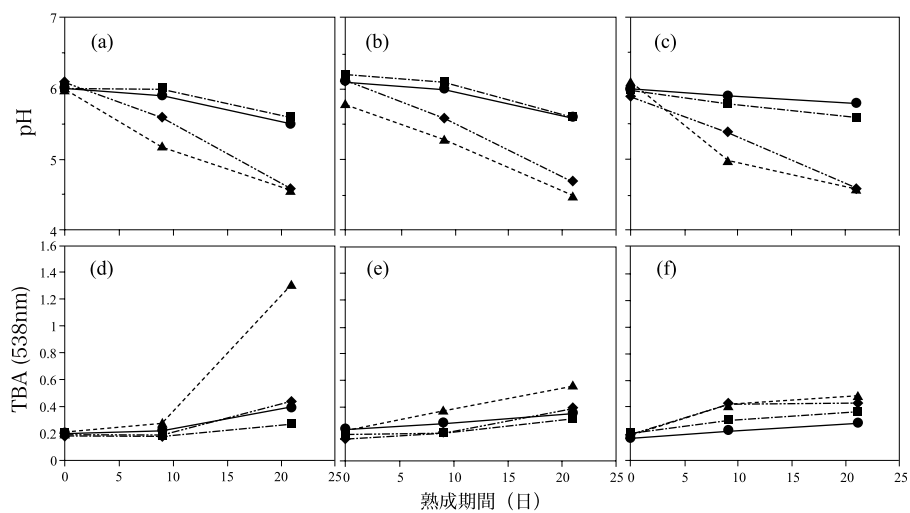


図4 各種発酵ソーセージ熟成中のpHおよびTBAの変化

(a), (d) : 食塩
(b), (e) : ボリビア産岩塩
(c), (f) : ドイツ産岩塩
(a), (b), (c) : pH
(d), (e), (f) : TBA

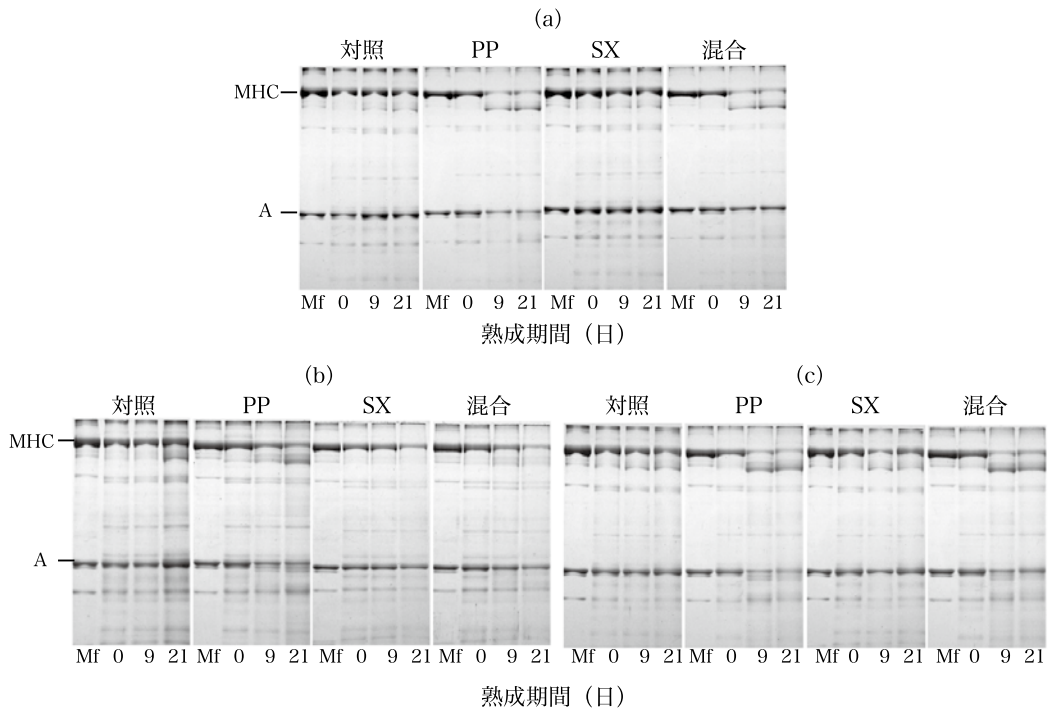


図5 各種発酵ソーセージ熟成中の SDS-PAGE パターン

MHC：ミオシン重鎖，A：アクチン

(a)：食塩，(b)：ポリビア産岩塩，(c)：ドイツ産岩塩

発酵ソーセージの一部 (0.4g) を 2% SDS-8M Urea-2% mercaptoethanol-20mM Tris-HCl (pH 8.0) 溶液に入れて、100℃で2分間加熱後、常温で24時間攪拌溶解した。可溶性タンパク質 (5μl) を 10% ポリアクリルアミドを支持体とした SDS-PAGE に供した。

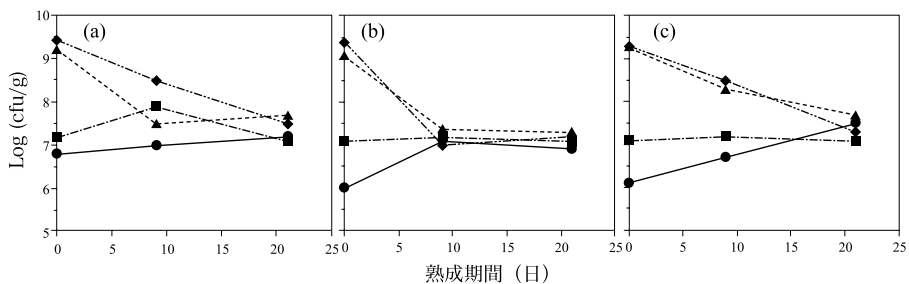


図6 各種発酵ソーセージ熟成中の乳酸菌数の変化

(a)：食塩，(b)：ポリビア産岩塩，(c)：ドイツ産岩塩

していた。いずれの試料でも熟成 21 日後の乳酸菌数は約 10^7 cfu/g レベルであった。

3. 考察

欧州では多種類のドライドソーセージが製造されており、産地により食肉部位、塩、香辛料、発酵時間や温度、脂肪量や形態およびスターター菌などが異なることが知られている⁹⁾。本研究ではその中で塩の違いに着眼し、製品の熟成中の品質に与える影響について検討した。その結果、食塩、ボリビア産およびドイツ産の異なる塩を使用しても製造工程（主に熟成工程）では塩分、pH、Aw、亜硝酸根、遊離アミノ酸総量、AMP 量、IMP 量およびタンパク質成分組成には大きな違いはみられなかった。また、熟成中の脂質酸化では塩の種類による違いがみられ、食塩の PP 添加区で熟成 21 日後に TBA の急激な上昇がみられた。脂質の酸化は光、酸素、温度、ヘム化合物、水分、酵素等の影響を受けるが、金属イオン封鎖剤（クエン酸等）が脂質酸化を抑制することが知られている¹⁰⁾。市販発酵ソーセージは有機酸組成が異なることから、熟成中に生成されるクエン酸量が塩により異なる可能性があると考えられるが、この点については目下、検討中である。さらに、本研究では香辛料を添加せずに発酵ソーセージを製造しているため脂質の酸化しやすい条件になっている可能性もある。

熟成 21 日後の最終製品の菌叢を調査したところ、食塩の対照区では *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus carnosus* の 5 種類が検出されたが、ボリビア産岩塩では *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus vitulus* の 4 種類、ドイツ産岩塩では *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus*

carnosus の 2 種類が検出され、塩の違いによる菌叢に違いが見られた。しかし、PP 添加区では塩の種類にかかわらず *P. pentosaceus* のみが検出された。SX 添加区では食塩とドイツ産岩塩では *S. xylosus*, *P. pentosaceus* および *S. carnosus* の 3 種類が、ボリビア産岩塩では前 2 者の 2 種類が検出された。混合区では塩の種類にかかわらず *S. xylosus* と *P. pentosaceus* の 2 種類が検出された。したがって、*P. pentosaceus* の単独の添加かまたは *S. xylosus* との併用が塩の種類にかかわらず増殖が良いことからスターター菌としての利用には効果的と考えられる。次に、菌叢が塩の種類で異なることから最終製品の遊離アミノ酸組成や香気成分を調査した。その結果、遊離アミノ酸総量はいずれの塩を用いても PP 添加区や混合区で対照区や SX 添加区よりも多く、熟成中のタンパク質の低分子化のプロフィルとよく対応していた。遊離アミノ酸組成をみると、塩の種類にかかわらず対照区が PP 添加区および混合区に比べてアルギニンが多く、PP 添加区でも対照区、SX 添加区および混合区に比べてグルタミン酸が多く、プロリンが少なかった（表 3）。また、香気成分をみると、塩の種類によりアルデヒド類、アルコール類、ケトン類、エステル類および炭化水素類の組成が異なっており、脂質酸化の進行した食塩の PP 添加区では 1-hexenal¹¹⁾ や 1-penten-3-ol¹²⁾ 等の脂質の酸化に関与する成分が他の試料よりも多く検出された（結果は図示せず）。Marco et al.¹³⁾ は発酵ソーセージ熟成中の微生物叢、化学成分および官能評価に及ぼす亜硝酸塩や硝酸塩の影響を調査し、脂質酸化は硝酸塩を添加した試料に比べ亜硝酸塩を添加した試料の方が進行すること、亜硝酸塩を加えた試料ではアミノ酸の分解や炭水化物の発酵により生じた香気成分が高いレベルで検出されると報じている。本研究では亜硝酸塩と硝酸塩の混合物を使用しており、亜硝酸塩や硝酸塩の違いは不明である

表 3 最終製品の遊離アミノ酸組成の比較

(mg/100g)

	食塩				ボリビア産岩塩				ドイツ産岩塩			
	対照	PP	SX	混合	対照	PP	SX	混合	対照	PP	SX	混合
Taurine	206.7	207.5	214.9	181.4	195.7	210.7	201.5	185.0	194.4	192.6	188.1	186.6
Aspartic acid	12.2	36.5	45.1	37.9	23.8	29.2	21.8	26.2	34.7	47.8	36.8	40.1
Threonine	51.3	53.6	43.1	50.1	54.3	53.0	46.6	48.1	48.1	48.1	43.1	44.3
Serine	28.4	51.3	37.4	39.6	54.6	49.5	47.7	44.1	49.3	44.8	43.6	40.0
Asparagine	4.3	34.1	23.6	30.9	23.6	38.6	29.4	38.7	20.6	35.9	26.9	34.8
Glutamic acid	108.1	194.9	141.1	182.4	130.4	212.8	178.4	193.1	124.7	222.5	168.4	183.1
Glutamin	52.9	36.0	57.2	41.0	65.2	36.7	48.8	39.7	36.9	22.2	27.4	10.2
Glycine	69.7	82.4	63.6	78.0	74.6	84.1	59.3	72.9	68.7	76.7	54.0	66.4
Alanine	167.3	132.5	137.7	133.4	141.4	126.8	130.7	132.6	138.2	120.9	126.1	126.6
Citrulline	7.6	ND	6.1	ND	5.3	ND	8.4	ND	ND	ND	ND	ND
Valine	64.3	69.8	60.7	68.4	58.9	65.4	64.0	71.1	42.8	58.3	58.6	62.9
Cystine	9.2	3.0	8.1	2.6	3.0	1.2	2.8	5.2	1.1	0.8	1.1	5.9
Methionine	27.4	33.4	23.7	30.3	28.0	36.6	29.9	36.2	27.2	33.0	30.7	31.7
Isoleucine	38.1	37.4	31.0	34.9	40.9	42.6	38.7	41.0	37.4	38.3	35.2	36.9
Leucine	76.8	106.4	66.3	96.3	83.9	109.4	91.0	105.7	76.0	97.5	81.6	94.4
Tyrosine	5.4	35.3	26.8	37.4	21.0	35.1	36.8	35.2	19.2	30.8	33.4	31.4
Phenylalanine	39.7	55.7	37.3	52.8	43.7	59.5	52.3	58.0	39.0	53.4	47.5	52.2
Tryptophan	10.2	8.6	9.4	9.5	7.8	7.2	8.0	8.3	8.0	9.2	2.3	9.0
Ornithine	26.3	60.3	11.2	56.8	11.7	65.4	33.8	58.1	10.3	59.7	30.3	52.5
Lysine	83.3	124.7	126.4	125.9	83.9	130.8	119.8	128.9	79.2	123.5	112.5	120.9
Histidine	33.7	32.0	31.8	34.8	35.3	33.9	37.6	33.7	33.2	31.4	35.2	31.3
Anserine	32.9	31.5	34.0	30.1	31.3	30.6	38.4	28.5	29.6	27.5	36.0	26.7
Arginine	21.4	1.6	32.6	2.3	28.4	3.7	5.0	3.5	24.1	1.1	2.4	ND
Hydroxyproline	2.3	2.0	2.5	2.2	1.8	1.5	1.8	1.9	ND	ND	ND	ND
Proline	68.0	38.3	66.3	47.5	50.4	20.6	43.6	35.0	44.8	18.0	38.9	30.7
Total	1247.4	1468.5	1337.9	1406.4	1298.9	1484.9	1376.2	1430.7	1187.5	1394.1	1259.9	1298.4

ND：検出されず

が、香気成分の醸成には微生物の影響が考えられるため、今後は微生物叢と香気成分との関係の調査も必要と思われる。

おわりに

本稿では発酵ソーセージの品質の中で主に化学成分とエキス成分を紹介した。この他に食肉の色調は重要な品質評価の一つである。本研究でも肉色の塩による違いを調査した。その結果、ボリビア産岩塩では熟成中に明るさや黄色味の低下や赤味の増加が他の塩よりもやや進行しているようにみられた。肉色の赤味の増加には水溶性タンパク質のミオグロビンが関係して

いる。発色剤である硝酸塩や亜硝酸塩は食肉内在や微生物由来の還元酵素、アスコルビン酸塩などの発色助剤の働きにより一酸化窒素 (NO) が生成され、この NO がヘムの鉄イオンに配位して、安定なニトロシルミオグロビンが生成される¹⁴⁾ことが知られている。そこで、最終製品のアセトン-塩酸抽出液の吸収スペクトル (350 ~ 600 nm) を測定したところ、波形が塩の種類が異なっても類似しているが、スターター菌の種類で 380 nm 付近のピークの高さが異なっていたことから、今後はスターター菌の種類による発色効果の違いについての検討も必要であると考えられた。さらに本研究の結

果から、塩の組成や形状の違いは発酵ソーセージ製造中の脂質酸化や微生物叢に影響を与えるものの、製品の品質にはスターター菌の影響がかなり大きいことが明らかとなった。今後はスターター菌と風味との関連を調査することにより日本人の嗜好性に合った発酵ソーセージを製造したいと思っている。

本稿は本誌 55(4), 34-42 (2013) を再検討したものである。

[謝辞]

本研究はソルトサイエンス財団の一般研究助成(研究課題番号:0654)の研究費の一部を用いて実施したものであり、ここに厚く感謝します。本研究の遂行に当たりご助言をいただいた(地独)道総研食品加工研究センター食品技術支援部研究職員 井上貞仁氏に厚く感謝します。

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

- 1) 渡辺至: サラミ, 「畜産物利用学」(斎藤忠夫, 根岸晴夫, 八田一編), 文英堂出版, 東京, pp.192-196, 2011.
- 2) 安井明美, 志村悦郎: 原子吸光法, 「新・食品分析法」((社)食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編), 光琳, 東京, pp.135-146, 1996.
- 3) 佐々木弘子: モール法, 「食品学実験書」(菅原龍幸編), 建帛社, 東京, pp.130-131, 2000.
- 4) 戸沢晴己: 水産食品中の亜硝酸塩定量法, 「食品分析法」((社)食品工業学会食品分析法編集委員会編), 光琳, 東京, pp.687-690, 1983.
- 5) 川崎賢一, 船津保浩, 伊藤裕佳子, 本江 薫, 鍋島弘明: スケトウダラ調味乾製品の呈味成分含量に及ぼす調味液中のソルビトールとスクロースの影響, 日食工誌, 44, 192-198, 1987.
- 6) Noll F. In: Bergmeyer HU(ed.) Methods of Enzymatic Analysis. 3rd edn., Vol.6. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 582-588, 1984.
- 7) 梶本五郎: TBA 値 (2- チオバルビツール酸法), 「食品分析ハンドブック」(小原哲二郎, 岩尾裕之, 鈴木隆雄編), 建帛社, 東京, pp.156-159, 1973.
- 8) Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685, 1970.
- 9) 坂田亮一: 世界のソーセージ, 「食材図典Ⅱ」(成瀬宇平監修), 小学館, 東京, pp.90-98, 2001.
- 10) 針宮正往: 脂質, 「新版食品学概論」(食品教育研究会編), 建帛社, 東京, pp.13-24, 1998.
- 11) Murel, E., Andres, A.L., Petron, M.J., Antequera T., Ruiz, J.: Lipolytic and oxidative changes in Iberian dry-cured loin. *Meat Sci.*, **75**, 315-323, 2007.
- 12) Nakamura, K., Iida H., Tokunaga, T.: Separation of identification of odor in oxidized sardine oil. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **46**, 355 - 360, 1980.
- 13) Marco, A., Navarro J. L., Flore, M.: The influence of nitrite and nitrate on microbial chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Sci.*, **73**, 660-673, 2006.
- 14) 若松純一: 色調, 「畜産物利用学」(斎藤忠夫, 根岸晴夫, 八田一編), 文英堂出版, 東京, pp.138-141, 2011.

人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (9)

—現代の日本人でも安心できない回虫の感染 (ノート)—

牧 純 (MAKI Jun) *1, 関谷 洋志 (SEKIYA Hiroshi) *1, 田邊 知孝 (TANABE Tomotaka) *2, 舟橋 達也 (FUNABASHI Tatsuya) *2, 玉井 栄治 (TAMAI Eiji) *1, 河瀬 雅美 (KAWASE Masami) *3, 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi) *4

*1 松山大学薬学部生体環境系薬学講座感染症学研究室, *2 松山大学薬学部生体環境系薬学講座衛生化学研究室,

*3 松山大学薬学部化学系薬学講座有機化学研究室, *4 明海大学歯学部病態診断治療学講座薬理学分野

Key Words : 回虫・線虫類・国民病・肺炎

Abstract

Jun Maki¹⁾, Hiroshi Sekiya¹⁾, Tomotaka Tanabe²⁾, Tatsuya Funahashi²⁾, Eiji Tamai¹⁾, Masami Kawase³⁾ and Hiroshi Sakagami⁴⁾

¹⁾Department of Infectious Diseases, ²⁾Department of Hygienic Chemistry, ³⁾Department of Organic Chemistry, College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University ⁴⁾Division of Pharmacology, Department of Diagnostic and Therapeutic Sciences, Meikai University School of Dentistry : Food that needs precautionary awareness for infection in human body (9) - To remember that Japanese people are still nowadays infected with the roundworm, *Ascaris lumbricoides* (note)

Japanese people are still today endangered to the infection with the roundworm (a kind of nematode), *Ascaris lumbricoides*. We have to be informed of what the parasite in question is like so as to avoid its infection. The disease caused through the ingestion of the infective eggs was once called "Japanese nation's disease (Japanese people's disease)" together with tuberculosis also rampant in Japan during and after the World War II in the country. The Japanese people used to suffer from diarrhea and the ache of the abdomen and intestine with the severe pneumonia and the possible invasion of adult worms into the brain and other organs occasionally leading to death. Nowadays these unfortunate results have been overcome thanks to hygienic cultivation of vegetables and education for the prevention. However, it is possible for us to be infected with *A. lumbricoides* abroad. The first-hand prevention is not to eat raw vegetables cultivated with human feces containing the eggs. Such a kind of vegetables should not be imported. Otherwise, the mature eggs ingested through the mouth are hatched resulting in the invasion of larvae migrating and parasitizing finally in the intestine as the adult worms. For the second-hand prevention, prompt diagnosis and treatment with pyrantel pamoate (conbantrin®) should be carried out without delay. So-called "direct smear method" of feces from patients is effective in detecting the infection. The adult worms can sometimes be found in the diagnosis of the gastrointestinal disorder with the X-ray and endoscope techniques. [Key words: roundworm, nematodes, Japanese people's disease, pneumonia]

要約

回虫症 (蛔虫症) は第二次大戦前後の日本では「国民病」と呼ばれた。日本人の大半が感染していた寄生虫のひとつで、少数感染なら下痢・腹痛程度であるが、重症の肺炎を伴ったり、脳に虫体が迷入したりして、死の転帰をとるケースも多々あった。その感染ルートの多くは食糧難の時代に家庭菜園で肥料に下肥 (しごえ, 人糞肥料) を利用して生産された非衛生的な生野菜を通してであった。感染性ある虫卵が砂埃や手指を介して感染するケースも現在では少なくなり、国内での感染例は比較的稀である。しかし、海外での感染及び非衛生的な生野菜の輸入される実態には引き続き警戒を要する。感染しているケースにおいては、早期発見・早期治療が当然ながら大切である。基本は検便で虫卵を見出すことであるが、X線胃腸透視や小腸内視鏡の検査で成虫が見つかることもある。本虫の成虫の駆虫にはコンバントリンが著効を呈する。

1. 緒論

「回虫」(又は「蛔虫」)。いずれの表記も見かけるが意味は同じ。以下回虫と記す)と聞いて、若い世代は何を連想するであろうか。第二次大戦中や戦後の日本で、回虫症が「国民病」として結核と並び称せられていた事実を知る若者は祖父母から耳にするのでなければ、極めて少ない。回虫は、当時日本人の大半が感染していた寄生線虫類のひとつである。その感染ルートも多くは食糧難の時代に家庭菜園で肥料に下肥(しもごえ、人糞肥料)を利用して生産された非衛生的な生野菜であった。現在では衛生状態が改善され、国内での感染例は稀である。しかし、海外での感染及び非衛生的な生野菜の輸入される実態には引き続き警戒を要する。その感染予防、早期発見・早期治療が当然ながら大切であるが、現代の日本では、特に若い世代を

中心に、一般に回虫に関する知識が乏しくなっているので、情報・知見を整理しておく価値があると判断された。

2. 材料・方法

回虫に関する成書・教科書を中心に調べた^{1)~26)}。定説となっている重要事項に焦点を当てて論述した。記載の数値に関しては定説に準拠した。『図説人体寄生虫学』²⁾等に見られる数値を重視した。

まず始めに、回虫の分類上の位置について述べる。表1¹⁷⁾に示されるように、回虫は線虫類に属し、吸虫や条虫とは種々の点で大いに異なる。

この線虫の成虫はヒトやブタなどの小腸に寄生する。現在ではヒトの回虫とブタの回虫は別種として扱われるが、従来これらは同じものと思われていた。ヒトの最も代表的な寄生虫であ

表1 多細胞からなる寄生虫(寄生蠕虫類)の3グループ間の比較

	線虫類 nematodes	吸虫類 trematodes	条虫類 cestodes
形態	円筒形	扁平(例外もある)	節に分かれ、全体としてひょろ長い
大きさ	数ミリ~1メートル	数ミリ~数センチ	数ミリ~10メートル
雌雄	異体	同体(住血吸虫のみは例外で、異体)	すべて同体
虫体の口~消化管~肛門	虫体のこれらの3者すべてあり	口あり、肛門なし。即ち消化管は盲端で終わる。老廃物は口から吐き出す。	3者のいずれもなし。
栄養吸収の部位 ^{*1}	消化管(例外的に体表からも ^{*2})	消化管と体表	消化管を欠くので、吸収可能なのは体表のみ
これまで本雑誌 New Food Industry で 取り上げた種 ^{18)~25)} 、または比較的よく知られている例	回虫、広東住血線虫、剛棘顎口虫、アニサキス、旋毛虫、旋尾線虫、蟯虫、ギョウチュウ、イヌフィラリア、鞭虫、鉤虫など	ウェステルマン肺吸虫、棘口吸虫、横川吸虫、肝吸虫、日本住血吸虫、巨大肝蛭など(いわゆるジストマ)	広節裂頭条虫、日本海裂頭条虫、無鉤条虫、大複殖門条虫、マンソン孤虫、エキノコックスなど(いわゆるサナダムシ)

^{*1} 栄養吸収の部位は寄生虫の試験管内培養の検討および薬の作用する箇所とその様式を研究するのに重要である。

^{*2} 広東住血線虫、イヌフィラリア(犬糸状虫)等宿主の血液内に寄生する線虫ではその体表を通じて、低分子化合物(グルコースなど)を吸収することが示されている。

る回虫について、ここではあまり厳密な両者の区別をしないで述べる。

3. 分布・疫学

回虫は世界的に分布する寄生虫である。それは寄生虫の代名詞のように語られる。途上国を中心に現在もなお回虫感染者は大変多い。旅行時、虫卵付着のサラダ等の生野菜に気をつけるべきである。新聞紙上によると中国東北部で生産されたキムチが問題視されたこともあった。韓国本土で人糞肥料は今日ではまず使われない。ただし離島ではわからないとの話を聞いたことがあるが、未確認情報である。日本でも人糞肥料は極めて例外的であり、現代では自家製漬物からの回虫感染の危険性は極めて稀である。

しかし、回虫症は日本で、昔から大きな問題であった。考古学の発掘現場からも回虫卵が見つかることがある。第二次大戦中および戦後は国内で回虫感染が猖獗を極めた。その後対策が進み、感染者は珍しくなった。現在の日本で回虫が残っているのは、トイレ汲み取りのバキュームカーの入っていけない例外的な山村僻地である。人糞の“合理的な”処理のため、それを野菜栽培に用いられている所が怖い。有人の離島は大丈夫であろうか。

4. 生物学・生活環

①外観

雌雄異体であり、体長は雌虫 30cm にも及ぶ。雄虫はもう少し小さくて、15～25cm 程度である。生殖器官の関係で雌虫の方が基本的に大きい。回虫の種名 *lumbricoides* は、環形動物のミミズに似た形をしていることに由来しているといわれているが、語源をもう少し調べる価値がありそうである。色調は、いわゆるスパゲティ

色で形状もそれに似ている。研究で回虫を材料とする研究者たちはよく親しみを込めて、ニックネームのように、“スパゲティ”と呼んでいる。角皮には体の両側の縦走する側線が観察される。

②生活史

回虫の雌の成虫はとりわけ生殖器が発達しており、虫体の大部分を占める。そして成熟した雌は1日およそ20万個もの卵を産むといわれている。それは成虫が最終的に小腸とはいえ、人体内という外界とは隔てられ、閉ざされた空間に寄生している生物の子孫を残すための一種の適応現象と解釈される。

小腸内で産み落とされた卵は小腸で孵化する事はなく、糞便と共に体外へ排出される。排出された卵は、外界の気候条件等にもよるが、分裂を繰り返す。2分裂を2回行い4細胞卵、次に桑実期卵→オタマジャクシ期卵（卵内容が tadpole おたまじゃくしの形に似ていることから命名）を経ておよそ1ヶ月程度で感染幼虫の中に含む卵となる。それが、生野菜、砂埃、非衛生的な手指などを介して経口感染する。このような虫卵に汚染された食物を摂取するか、手指に付着した虫卵、砂埃に混ざった虫卵が感染源となる場合が多い。

口から胃に入り、胃液による卵殻の消化を受けたその虫卵から中の仔虫が外に出て、小腸に移動する。その後、腸壁を通過して、肺に到達する。その仔虫は肺胞に出て（このため肺炎様症状が見られる）、気管をさかのぼり、咽頭から食道、胃を経て再び小腸へ戻り、脱皮を繰り返して成虫になる。仔虫から成虫になるまでの総期間は2～3ヶ月程であり、寿命は2～4年とされている。

この複雑な移動経路が「回虫」という名前の由来であるという説もあるぐらいである。エネルギー産生系も環境に応じて変化する（Kita & Takamiya, Adv.Parasitol. 51:95-131, 2002）。肺に

いるときは好氣的代謝を行なう。TCA サイクルも重要なものであるが、酸素分圧の小さい環境下、例えば小腸における成虫は嫌氣的代謝で ATP 産生を行なう。このあたりの分子生物学・生化学は以前より注目され大いに研究され定説となっている教科書的事実である。回虫の語源には又別の説もある。説得力のあると思われるのは英名 roundworm を訳したものであろう。ヒト体内で round trip 巡回するからかもしれない。はたまた、頭部と尾部の形が一見にており、しかも全体に巻いているからかもしれない。回虫はおおざっぱに言って、“たけやぶやけた”のように、上から読んでも下から読んでも同じ「回文」のようである。

5. 感染源

非衛生的な国や地域では感染性のある回虫卵がホコリ（埃）に混じっていることがある。手指に回虫卵が付着していることもある。見かけでは判らなくても、下肥で汚れた生野菜に付いている感染性のある回虫卵は、野菜を少々水洗いしたぐらいではなかなか落ちない。海外旅行で、汚染されている地域の野菜サラダを食べて感染することがあるので、空輸される野菜においては問題がないであろうか。それらに付着している虫卵が、全く無意識のうちに口に入って感染することが懸念される。警戒すべきである。

6. 症状

これに関しては 1988 年発行のテキスト⁷⁾が以前の日本における状況をよく伝えている。少数寄生なら腹痛、めまい程度である。少数の成虫が小腸に寄生する場合は、あまり著明な症状のみられないことが多い。しかし、小児や、過敏性の成人、体力の低下している高齢者におい

ては、たとえ少数匹しか寄生していない場合でも消化器障害、腹痛、嘔気、下痢などの胃腸障害や、不眠、イライラ、頭痛などの神経症状、咳、発熱が見られることがある。

現在の日本ではまず見られなくなったが、多数寄生が実に怖い。以前は死亡例もあった。途上国ではまだまだ警戒すべき寄生虫である。数十ないしは数百もの多数の回虫が寄生すると、腸閉塞を起こすこともある。また、成虫が本来の寄生部位（小腸）以外の組織・臓器に侵入することで重篤な障害を起こすことがある。その中でも最も多いのが胃内迷入（逆虫現象、さかむしげんしょう）で、急激な胃痛、嘔気、嘔吐などをきたす。口から成虫を吐き出した症例もある。虫垂に侵入することで虫垂炎の原因となることも少なくない。極端な例では成虫が肺や脳に迷入したケースもある。このような迷入を起こすのはブタ回虫ではないかとの説もある。いずれにせよ、普通の生活が困難となる。

このように、日本でも戦中戦後、多数の回虫が寄生し、種々臓器に侵入した例が珍しくなかった。現代の日本では多数の回虫に一時期に感染することは極めて稀である。例外的には、1980 年代、肝臓に多数匹が迷入した症例が引用されている²⁾。

7. 診断

寄生の匹数はたとえ少なくとも糞便検査は、特別な状況下を除けば、有効である。その特別な状況下とは、感染している回虫成虫が老熟化して最早産卵能力がなくなっているか、または逆に幼若ゆえに産卵能力が備わっていない場合である。雄のみしか寄生していない場合も、当然ながら虫卵は見出せない。成虫が器官に迷入している場合も虫卵が見つからないことがある。

多数の成熟した回虫が小腸に寄生していれ

ば、産卵する雌成虫も含まれ、虫卵が検便で見つかると考えられる。成虫が小腸に寄生しているにも拘わらず、虫卵が検便で見つからないのは、下記からも推論されるように、雄成虫のみの少数寄生であると推定される。

上記のように、回虫の雌一匹あたりの産卵数は1日に20万個に及び、ヒトの一日の排便量が150グラムぐらいとして、計算すると爪楊枝の先に付着する糞便3～5mgをもとにしたある計算がある。

20万個÷150グラムで1グラム当りの虫卵数を計算し、糞便3～5mg中に含まれる回虫卵数は5個前後である。これなら直接的な方法で検出可能である。これが、糞便検査を行う際には、直接塗抹法（特にセロファン厚層塗抹法）が用いられうる根拠となる。

検便を繰り返し行なっても、いわゆる不受精卵しか見つからないことがある。少数匹の成虫しか寄生していない場合である。仮に、回虫がわずかに1匹のみ寄生していて、それが雌虫である確率はほぼ50%であるが、2匹または3匹しか寄生してなくてすべて雌である確率はそれぞれ25%、12.5%である。現在のように、寄生しても少数匹数の場合すべて雌のみのケースは十分起こりうる。つまり不受精卵しか検出されない。臨床の現場では、不受精卵しか見つからない場合は、少数の匹数しか寄生していない故と推定されよう。

X線胃腸透視、小腸内視鏡による検査も回虫の成虫の感染の確認に役立つので、行なわれることがある。むしろ偶々見つかることも多い。

8. 治療

駆虫剤として、ピランテルパモエイト（コンバントリン®）が著効を示す。昔はサントニン、マクニン、カイニンソウなどが投与された。途

上国ではしばしば、安価で比較的効果が高いメベンダゾールが投与されている。これはいろいろな線虫に効く抗線虫剤である。幾つかの線虫類、例えば鞭虫、鉤虫に同時に感染している寄生虫病流行地の人々に有用である。

9. 予防

一次予防：とにかく感染しないことである。衛生状態のよくない地帯の野菜類を生食する際には水洗して虫卵をしっかりと洗い落とす必要があるが、限界もある。そういう場所から空輸されてきたものかもしれない。70℃、10秒以上の熱処理を加えて虫卵を殺滅することが望ましい。途上国に赴任する日本人たちは沸騰水のなかに生野菜をある程度漬けてから食べる慎重な日本人もいる。これは温野菜である。日本の温泉地、例えば別府（大分県）の鉄輪温泉（かんなわおんせん）では伝統的に野菜を温泉の蒸気で蒸してから食べる習慣がある。これは結果として回虫など寄生虫の対策に役立ってきたと考えられる。海外の温泉地帯でも実行する価値のあるところがあるかもしれない。

抜本的に、回虫感染を排除するためには衛生環境の向上が必須である。便所、糞尿処理、上水道施設などの設置に焦点をあてた衛生管理で、徹底的な改善が望ましい。

感染が蔓延している地域の住民に衛生教育を行うことも必要である。わが国では上記のような改善と教育が進んでいるため、現在は回虫感染者が稀である。発展途上国などにおいては未だ大きな問題で、赴任ないし旅行の日本人は気をつけるべきである。当然ながら設備・教育の徹底が急務であるが、まずは意識を持つことである。これには旅行会社もしっかりとしていただきたい。

二次予防：回虫による障害は、種々の臓器迷入も含め、多岐にわたっているため、間違いの

ない診断が求められる。早期発見には症状の把握と検便が大切である。現在では良い駆虫薬が開発されている。

上記のように、回虫は感染初期に肺を通るため、一過性の肺炎症状（レフラー症候群）が見られることがある。上腹部の仙痛も典型的な症状である。この原因は回虫の分泌物や排泄物によって感作された消化管が、さらに回虫体からの同一物質によって激しいアレルギー反応を起こすことによると考えられている⁷⁾。

結 語

回虫感染の予防のためには、非衛生的な食べ物、特に生野菜に気をつける。国内ではまず問題がないが、途上国では注意の喚起が必要である。

[謝辞] この研究は各方面の方々の協力を得て進められた。卒業研究の学生たちも大いに協力してくれたが、これを契機に今後彼らのそれぞれの分野における研究が成功裏に展開することが望まれる。

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

- 1) Faust EC, Russel PF and Jung RC: Craig & Faustus' Clinical Parasitology 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, (1970)
- 2) 吉田幸雄・有蘭直樹:『図説人体寄生虫学』改訂第8版, 南山堂(東京)(2011)
- 3) 佐々 学:『人体病害動物学—その基礎・予防・臨床・治療』, 医学書院(東京)(1975)
- 4) 大鶴正満編集:『臨床寄生虫学』, 南江堂(東京)(1978)
- 5) 柳沢十四男, 井上義郷, 中野健司:『寄生虫・衛生動物・実験動物』講談社サイエンティフィク, 講談社(東京)(1983)
- 6) 林 滋生編集代表:『本邦における人獣共通寄生虫症』, 文永堂(東京)(1983)
- 7) 鈴木了司, 安羅岡一男, 柳沢十四男編:『新医寄生虫学』第一出版(東京)(1988)
- 8) 小島莊明編集:『NEW 寄生虫病学』, 南江堂(東京)(1993)
- 9) 伊藤洋一:『医療技術者のための医動物学』講談社サイエンティフィク, 講談社(東京)(1995)
- 10) 寄生虫症薬物療法の手引き 改訂第6.0版:「熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究」班, (2007)
- 11) 小泉 丹:『人体寄生虫』(第2刷発行) 岩波全書 164, 岩波書店(東京)(1953)
- 12) 関水 and 久編著:『やさしい微生物学』 廣川書店(東京)(2011)
- 13) 土屋友房編:『微生物・感染症学』化学同人(東京)(2008)
- 14) 上村 清, 井関基弘, 平井和光, 木村英作:『寄生虫学テキスト』(第2版3印刷), 文光堂(東京)(2005)
- 15) 岩波写真文庫『蛔虫』, 復刻版, 岩波書店(東京)(2007)
- 16) 松林久吉編集:『人体寄生虫学ハンドブック』, 朝倉書店(東京)(1972)
- 17) 牧 純, 玉井栄治, 関谷洋志, 田邊知孝, 舟橋達也, 野元 裕, 明樂一己, 岩村樹憲, 河瀬雅美, 坂上 宏: *Metagonimus* 属吸虫類の感染による社会的・経済的損失および一次・二次予防の対策に関する基盤研究, 松山大学論集 24 (5), 175-194, (2012)
- 18) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (1) —特に広東住血線虫の感染源となりうるもの(ノート), *New Food Industry* **53**, 23-26, (2011)
- 19) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (2) —特に肝吸虫(旧名肝ジストマ)の感染源となりうるもの(ノート), *New Food Industry* **53** (9), 37-42 (2011)
- 20) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (3) —日本海裂頭条虫の感染源となりうるもの(ノート), *New Food Industry* **53** (11), 37-40, (2011)
- 21) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (4) —ウェステルマン肺吸虫の感染源となりうるもの(ノート), *New Food Industry* **54** (2), 36-40, (2012)

- 22) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (5) —横川吸虫類 (*Metagonimus* spp.) の感染源となりうるもの (ノート), *New Food Industry* **54** (4), 39-45, (2012)
- 23) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (6) —剛棘顎口虫の感染源となりうるもの (ノート), *New Food Industry* **54** (5), 25-28, (2012)
- 24) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (7) —無鉤条虫の感染源となりうるもの, *New Food Industry* **54** (7), 45-48, (2012)
- 25) 牧 純, 関谷洋志, 玉井栄治, 坂上宏: 人体への寄生虫感染を警戒すべき食材 (8) —棘口吸虫類の感染源となりうるもの (ノート), *New Food Industry* **54** (9), 39-42, (2012)
- 26) 小島莊明: 『寄生虫病の話 - 身近な虫たちの脅威』中公新書, 中央公論新社 (東京) (2010)

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、品揃えしております。

一般の栄養強化には、「ホワイトン」

機能を求めるならば、「コロカルソ」

飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」

詳細につきましては、弊社営業担当に
お気軽にお尋ね下さい。

 **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

ニジマスの親魚用飼料— 1

酒本 秀一*

*SAKAMOTO Shuichi

Key Words: ニジマス・親魚用飼料・エクストルーダーペレット・ハードペレット・卵・精液・人工授精・
発眼率・孵化率・奇形率

ある水産試験場の方から以下の情報を得た。「エクストルーダーペレット（以下 EX と略記）で長期間飼育したニジマス親魚から採卵・採精し、人工授精すると結果が思わしくなかった。ニジマスとイワナでこの傾向が認められたが、特にニジマスで酷かった。原因を調査してみたところ、EX で飼育した雄の精子の活性が低く、不動の精子が占める割合が高かった。これが原因の一つではないかと考えている。ハードペレット（HP）での飼育ではこの様な事は一度も経験したことが無いので、EX は親魚用飼料として適していないのではないかと推定している。一度キチンと調べてみた方が良いのではないか。」

色々な飼料の製造法と出来た飼料の性状については既に数冊の本が出版されているので詳細はそちらを見て欲しいが、極簡単に EX と HP の製造法を説明する。

EX は原料を混合、粉碎した後バレル内に蒸気を吹き込みながら混合する。次にエクストルーダーで高湿高温高圧下で混練して原料内に微小な空気粒を含ませると共に澱粉を α 化させる。最後に小さな穴から吐出させた飼料を高速カッターで切断してペレット状に成形する。この時に急に圧力が下がるので飼料内に混入し

ている空気粒が膨大し、内部に空気を含む嵩比重が小さくて浮上性の強い飼料になる。

HP は混合、粉碎した原料をペレットマシンでローラーを用いて物理的な圧力を加えてダイに開けたノズルに押し込み、押し固める。ノズルから押し出された棒状の飼料をカッターで切ると云うよりぶつけて折り、粒を作る。

EX は生産性を高めるために飼料の炭水化物源を減らしてタンパク質源を増やし、押し出しスピードを高めるために油を添加するが多い。よって EX は HP より高タンパク質高カロリーになっている。

高タンパク質高カロリー飼料で魚を飼育すると高い成長率と飼料の効率が得られる一方で、魚体、特に腹腔内に脂質が蓄積する傾向が認められる。腹腔内に過剰な脂質が蓄積されると魚種によっては卵を産まなくなることが知られている。

養殖現場では魚の成長と飼料効率が良くなるので EX に対する要求が強いが、EX を親魚に使用することで再生産の効率を悪くしているのであれば大きな問題である。よって EX と HP でニジマスを長期間飼育し、飼育成績を調べると共に採卵・採精して人工授精を行い、受精率、発眼率、奇形率などを調べ、EX と HP がニジ

マスの再生産に及ぼす影響を比較してみた。

材料と方法

1. 飼料

市販飼料の EX と HP を用いた。それぞれの分析値を表 1 に示す。但し、今回の試験は一年以上に及ぶ長期の試験なので数ロットの飼料を使用した。表 1 の数値は使用した数ロットの平均値である。EX の方がタンパク質と脂質が多く、炭水化物が少ない。カロリー量と CP (カロリー/タンパク質) 比も EX の方が高い。カロリー量はタンパク質:4、脂質:9、炭水化物:2Cal/g として計算で求めた数値である。また、数字には出てこないがエクストルーダー処理することによって澱粉が略完全に α 化するので、EX の炭水化物の消化吸收率は HP の 2 倍程度に高くなっているはずである。

表 1 飼料の分析値

飼料	EX	HP
水分 (%)	9.7	11.0
タンパク質	46.3	44.5
脂質	9.6	6.7
炭水化物	21.9	24.0
灰分	10.4	11.1
Cal/100g	315	286
CP 比	6.81	6.43

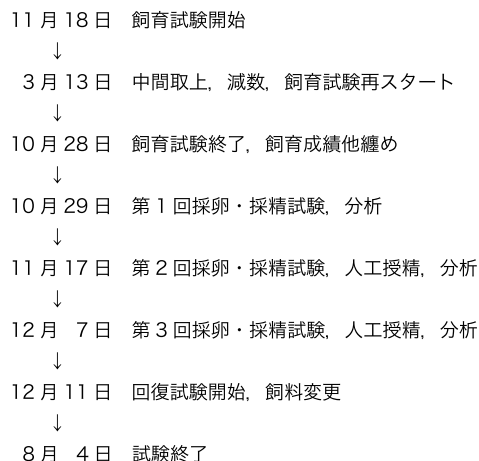
2. 試験の流れ

図 1 に試験全体の流れを示す。11 月 18 日に EX と HP を用いて飼育試験を開始した。翌年の 3 月 13 日には魚の成長によってこのままの飼育密度では危険な状態になったので、中間取上を行い、両区共減量して飼育試験を再スタートした。10 月 28 日に飼育試験を終了し、これまでの飼育成績を纏めた。10 月 28 日に魚の成熟程度を調べたところ、両区共一部の魚が採卵・採精可能な状態になっていた。よって直ちに採卵・採精試験を行うことにした。10 月 29 日に第 1 回、11 月 17 日に第 2 回、12 月 7 日に第 3 回の採卵・採精試験を行った。その後 12 月 11 日から投与飼料を変更して回復試験に移行し、翌年の 8 月 4 日に全ての試験を終了し、生残率を確認した。

3. 飼育試験

3-1. 飼育条件

屋内の 10KL 容八角形コンクリート水槽で飼育試験を行った。但し、魚の飛び出しを防ぐ為に両区共水量は 5KL に調整して飼育した。水温は 14℃、給餌は日に 2 回 (午前 1 回、午後 1 回)、給餌率は改変ライトリッツ給餌率である。



飼育成績、魚体測定、解剖、分析 (魚体測定、解剖、分析は 10 月 28 日には実施せず)

体重測定、卵の大きさ、採卵可能卵体重比、精子の運動性、スパーマトクリット値、分析、発眼率、孵化率、奇形率、池出し率

生残率確認

図 1 試験の流れ

3-2. 取上と調査

11月18日に平均体重が約350gのニジマス成魚をEX区、HP区共に116Kg収容して飼育試験を開始した。翌年の3月13日に全尾取上を行い、両区共75Kgに減量して飼育試験を再スタートした。11月18日と3月13日には両区から10尾ずつサンプリングし、FA100麻酔下でヘパリン処理5mLプラスチック注射筒を用いてキュビエ氏管から各尾等量ずつ採血した。血液は区毎にプールして遠心分離(3000rpm×15分間)して血漿を分離し、分析に供した。魚体は尾叉長と体重の測定を行って肥満度(体重×100/尾叉長³)を求めた。更に魚体を解剖し、各臓器の状態を肉眼で観察すると共に内臓(心臓と腎臓を除く全ての臓器を含む)、肝臓、腹腔内脂肪蓄積組織(DL)、生殖腺の重量を測定し、体重比を求めた。背肉と肝臓は各尾から等量ずつ採取し、区毎に纏めて一般成分の分析に用いた。飼育試験終了時の10月28日には全尾数の確認と重量の測定は行ったが、分析用サンプルの採取は行わなかった。

4. 採卵・採精試験

4-1. 10月29日

両区共全尾腹部を圧迫して放卵・放精の有無を確認し、完熟個体から採卵・採精を行った。

卵の大きさ:放卵を確認した雌をFA100で軽く麻酔し、体重を測定する。体表を布できれいに拭いて水を取り去り、腹部を手で圧迫して放卵させ、箆に受ける。腹腔内液が無くなるのをまって総卵重を測定し、そこから約10gの卵を採取して精秤する。精秤後卵の状態を観察しながら数を数える。精秤した卵重と卵数から卵1個当たりの重さを求める。

精子の運動性:放精を確認した雄をFA100麻酔下で体重を測定する。採精時に体表の水が混入すると直ちに精子は運動を開始するので、採精時に水が混入しないように体表を布できれいに

拭いて水を拭き取る。腹部を手で圧迫して放精させ、精液を清浄なピーカーに受ける。少量の精液をスライドガラス上に載せて顕微鏡下にセットし、ピントを精子に合わせておく。水を加えて混合し、精子の運動の有無を確認する。

この手法で精子の運動性を確認しようとしたが、キチンと観察できなかった。原因は精子の運動時間が非常に短い(数十秒程度)ことと、加水・混合後顕微鏡のピントを合わせるのに時間を要することであった。このような状態であったので、今回は精子の運動性は確認出来なかった。

卵と精液の分析:各尾から等量ずつの卵と精液を取り、区毎にプールして一般成分、脂質クラス、脂肪酸組成の分析に供した。一般成分と脂肪酸組成は定法で、脂質クラスはイヤトロスキャンで分析した。

人工授精:EX区の採卵可能個体が2尾と少なかったため、人工授精は行わなかった。

4-2. 11月17日

採卵・採精、卵の大きさの測定ならびに卵と精液の分析は10月29日と同じ方法で行った。

精子の運動性:前述の方法では精子の運動性が上手く調べられなかったため、赤血球数算定法¹⁾を参考にして方法を改善した。採取した精液をマイクロピペットを用いて顕微鏡下に設定した血球算定版の測定室に入れ、精子にピントを合わせておく。次にマイクロピペットを用いて水を血球算定版とカバーガラスの隙間から浸透させる。精子は水に触れると直ちに運動を始めるので、その動きを観察する。この方法であれば精子の運動性は肉眼で十分に観察出来た。但し、この方法でも運動性を数字で表すことは出来ないため、運動性を不動(動かない)、弱(運動性はあるが動きが弱い)、普通(普通に動く)、強(活発に動く)の4段階に分けて表示することにした。

スパーマトクリット値:スパーマトクリット

値はヘマトクリット値測定法²⁾に準じて調べた。毛細管に精液を入れ、一端をパテで封じ、11000rpmで5分間遠心分離した後、精液中の固形物（精子）が占める割合を測定版を用いて求めた。魚ではスパーマトクリット値が受精率に影響することが知られており、スパーマトクリット値が多少低くなって、精子濃度がやや薄くなった精液の方が受精率が高いことが報告されている。

人工授精:今回はEX区16尾、HP区21尾から採卵することが出来たので、人工授精を行った。手順は以下の通りである。個体別に採取した卵から各尾等量ずつ取り、放置時間があまり長くなならないように3尾分ずつの卵を一緒にして複数の雄の精液を加え、手で卵を丁寧に攪拌する。暫くしてから水を加えて放置し、受精、吸水させる。卵を傷めないように静かに注水し、精液他の汚れを十分に洗い流す。その後孵化槽に収容して卵管理を行う。12月7日に検卵を行って発眼率（総卵数に対する発眼卵の率。受精しなかった卵は発生が進まないで目が出来ない。）、12月16日に孵化率（総発眼卵数に対する孵化仔魚の率）、孵化仔魚の奇形率（総孵化仔魚数に対する奇形魚の率）を求めた。その後孵化槽内で仔魚が水面に浮上するようになってから外の池へ移すのであるが、その時に魚の数を計数し、人工授精した卵の総数と孵化槽から屋外の池に移動させた稚魚の総数から池出し率を求めた。

4-3. 12月7日

11月17日と略同様の処理を行ったが、今回は精子の運動性と受精卵の孵化率、奇形率、池出し率などは調べなかった。

5. 回復試験

12月7日に採卵・採精試験が終了したので、12月11日から回復試験を行った。生殖腺が大きくなった魚は摂餌せず、体に蓄積した栄養分

を分解して生殖腺へ移行させるので採卵・採精後の魚は衰弱している。更に採卵・採精を行う為に玉網で取上られて麻酔され、布で体表を拭われ、手で強く腹部を圧迫される。これらの作業によって魚の体表粘液は剥がれ、傷付いている。このような状態のまま魚を放置しておくで細菌やカビの感染によって大量死を起こすので、12月11日から従来のEX、HPに免疫賦活剤（ β -1,3/1,6-グルカン、トーアラーゼ、ビタミンC、ビタミンE）を外割で1%魚油に懸濁させて吸着させた回復試験用飼料を与えた。なお、飼料への魚油添加量は外割で2%である。翌年の8月4日まで回復試験を継続し、その間魚の状態変化や死魚数を調べた。

回復試験中の飼育条件は飼育試験と同じである。8月4日に全魚を取上げて計数し、生残率を調べて回復試験を終了した。

結果

1. 飼育試験

1-1. 飼育成績

11月18日から翌年の10月28日までの飼育試験の結果を表2に示す。従来の試験で得られている結果と同様に、今回の試験でも生残率、成長、飼料効率（増重量×100/給餌量）、タンパク質効率（増重量×100/給与タンパク質量）等はEX区の方が良かった。これはEXの方が高たんぱく質高カロリーで、CP比も高く、炭水化物の利用率も高くなっていることを考えれば当然の結果である。

表2 飼育試験の結果

飼料	EX	HP
生残率 (%)	90.9	82.8
増重量 (Kg)	292	232
給餌量 (Kg)	491	465
飼料効率 (%)	59.5	49.9
タンパク質効率 (%)	128.5	112.1

1-2. 調査結果

11月18日の飼育試験開始時と翌年の3月13日の中間取上時に両区から10尾ずつサンプリングして色々な調査と分析を行ったが、中間取

上時の結果のみを代表して表3に示す。両区共平均体重より大きな魚をサンプリングして調べたので、この値が両区を代表しているとは断言出来ないが、大きな傾向は掴めるのではないかと思う。

表3 調査結果 (3月13日)

飼料	EX	HP
魚体測定と解剖		
尾叉長 (cm)	38.3	39.3
体重 (g)	755.6	854.2
肥満度	1.34	1.41
内臓体重比 (%)	8.55	9.85
生殖腺を除いた値	8.35	8.81
肝臓体重比 (%)	0.98	1.01
DL 体重比 (%)	1.92	2.16
生殖腺体重比 (%)	0.20	1.04
背肉の分析値		
水分 (%)	76.7	75.9
タンパク質	21.9	22.6
脂質	0.68	1.07
灰分	1.81	1.85
肝臓の分析値		
水分 (%)	76.0	76.9
タンパク質	17.2	16.7
脂質	5.02	4.68
灰分	1.60	1.55
血漿の分析値		
Glu (mg/dL)	187	182
T-Cho (mg/dL)	374	395
T-Pro (g/dL)	4.2	4.2
TG (mg/dL)	262	228
ALP (IU/L)	153	137

肥満度、内臓体重比（生殖腺を除いて補正した値）、肝臓体重比、DL 体重比はいずれも両区で大きな違いは無く、EXで飼育した魚の方が魚体に脂質が蓄積していると思わせる傾向は認められなかった。この様に魚が1Kg近い大きさになると、EXで飼育した小型魚では必ず認められる脂質の大量蓄積は認められなくなる様である。

背肉と肝臓の分析値からも同様のことが云える。血漿成分ではグルコース (Glu)、総コレステロール (T-Cho)、総タンパク質 (T-Pro) 含量に両区間で違いは無く、トリグリセライド (TG) 含量とアルカリ性フォスファターゼ (ALP) 活性がEX区の方が高いことのみが、EXの方が脂質含量が高く、魚の成長も良いことを示している。

生殖腺体重比はEX区の0.2%に対しHP区の1.04%と可也違い、HP区の方が性成熟の進行が早いのではないかとと思われるが、これは屋内での水槽の位置関係によってHP区の方が

表4 卵と精子の性状

月・日	10月29日		11月17日		12月7日	
飼料	EX	HP	EX	HP	EX	HP
雌						
採卵魚数 (尾)	2	8	16	21	19	12
平均体重 (g)	2750	2316	2356	2355	2402	2096
平均卵重 (mg/個)	69.5	66.8	74.3	72.4	82.5	76.0
卵体重比 (%)			14.7	14.5		
雄						
スパーマトクリット値 (%)			17.4	18.9	22.1	19.6
精子の運動性						
不動 (%)			20	20		
動			80	80		
弱			40	40		
普通			20	20		
強			20	20		

照度が低かったことに関係している可能性が有る。

2. 採卵・採精試験

2-1. 採卵・採精の結果

表4の上段に採卵結果を示す。採卵可能個体は10月29日にはEX区2尾とHP区8尾, 11月17日にはそれぞれ16尾と21尾, 12月7日には19尾と12尾であった。雌の成熟最盛期はEX区が12月7日, HP区は11月17日と思われ, HP区の方がやや性成熟が早い様である。これは3月13日の解剖結果と一致している。

卵の大きさは常にEX区の方が大きく, 両区共時期が遅くなる(10月29日→11月17日

→12月7日)につれて卵が大きくなる傾向が認められた。採卵可能な卵体重比(採出可能な卵量の体重に対する比率)は11月17日にしか調べていないが, 両区共殆ど違いが無かった。

表4の下段に精子の性状を調べた結果を示す。スパーマトクリット値は11月17日と12月7日に調べたが, 両区で殆ど違いは認められなかった。また, 11月17日に調べた精子の運動性においても両区は全く同じ値を示しており, 水産試験場の方の指摘のような違いは認められなかった。

2-2. 卵の分析値

表5に卵の一般成分と脂質クラスの分析結果を示す。水分, タンパク質, 脂質, 灰分に両

表5 卵の一般成分と脂質クラス

月・日 飼料	10月29日		11月17日		12月7日	
	EX	HP	EX	HP	EX	HP
卵の一般成分						
水分 (%)	61.8	62.2	60.6	61.8	61.1	61.0
タンパク質	26.9	26.9	27.7	26.9	27.3	27.5
(% 乾物)	70.4	71.2	70.3	70.2	70.1	70.5
脂質	6.82	7.32	8.01	6.96	6.80	6.99
(% 乾物)	17.9	19.4	20.3	18.2	17.5	17.9
灰分	2.80	2.53	2.45	2.25	2.47	2.74
(% 乾物)	7.33	6.69	6.21	5.88	6.35	7.03
卵の脂質クラス						
非極性脂質 (%)	68.25	69.35	70.46	70.25	68.69	69.36
極性脂質	31.75	30.65	29.54	29.75	31.31	30.64
非極性脂質 (%)						
SE	0.57	0.35	0.61	0.50	0.13	0.04
TG	64.22	65.68	66.59	66.44	65.75	66.32
DG	3.26	2.99	2.83	2.85	2.62	2.86
FFA	0.10	0.25	0.22	0.32	0.14	0.11
FC	0.10	0.09	0.21	0.13	0.04	0.04
極性脂質 (%)						
PEA	0.50	0.57	0.61	0.62	0.46	0.48
PS	0.10	0.05	0.12	0.11	0.12	0.10
PC	30.84	29.85	28.55	28.86	30.58	29.95
SM+LPC	0.30	0.16	0.18	0.14	0.14	0.06
未同定	0.02	0.02	0.07	0.03	0.02	0.05

SE:Steryl esters, TG:Triglycerides, DG:Diglycerides, FFA:Free fatty acids,
FC:Free cholesterol, PEA:Phosphatidyl ethanolamine, PS:Phosphatidyl serine,
PC:Phosphatidyl choline, SM:Sphingomyeline, LPC:Lysophosphatidyl choline

表 6 卵の脂肪酸組成

月・日 飼料	10月29日		11月17日		12月7日	
	EX	HP	EX	HP	EX	HP
14:0 (%)	0.93	0.97	0.93	1.11	1.12	1.06
16:0	12.71	14.33	12.46	15.33	14.64	14.85
16:1n11	0.60	0.74	0.63	0.79	0.70	0.71
16:1n9	3.70	4.55	3.63	4.67	3.98	4.55
16:1n7	0.64	0.41	0.57	0.45	0.66	0.46
18:0	5.43	6.04	5.61	6.21	5.75	6.47
18:1n9	21.62	21.96	23.46	22.69	23.00	22.95
18:1n7	4.05	4.15	4.07	4.10	3.84	4.12
18:2n6	8.19	8.29	9.45	8.81	9.34	9.18
18:3n3	0.72	0.65	0.81	0.73	0.81	0.76
18:4n3	3.52	2.11	3.10	2.04	2.78	2.08
20:1n9	1.53	1.58	1.57	1.59	1.42	1.50
20:2n6	3.09	2.91	2.92	3.04	2.91	2.89
20:5n3	2.51	2.41	2.58	2.26	2.52	2.40
22:5n3	1.32	1.12	1.26	1.02	1.14	1.02
22:6n3	24.49	22.63	21.88	21.32	20.86	21.19
未同定	4.97	5.15	5.04	3.86	4.52	3.78
$\Sigma n3$ (%)	32.56	31.92	29.63	27.37	28.11	27.45
$\Sigma n6$ (%)	11.28	11.20	12.37	11.85	12.25	12.07
$\Sigma n3/\Sigma n6$	2.89	2.85	2.40	2.31	2.29	2.27
DHA/EPA	9.76	9.39	8.48	9.43	8.28	8.83
DHA/18:1n9	1.13	1.03	0.93	0.94	0.91	0.92

区間で違いは無く、時期による違いも認められなかった。よって、卵の大きさによる成分の違いも無いことになる。脂質クラスでは非極性脂質（中性脂質）が約 70%，極性脂質が約 30% で、非極性脂質の主体はトリグリセライド (TG) で、極性脂質の主体はフォスファチジルコリン (PC: レシチン) であった。脂質クラスにおいても両区間の違いと時期による違いは認められなかった。

卵の脂肪酸組成を表 6 に示す。EX 区の 18:4n3 の占める割合が HP 区より高いが、これは飼料に 2% 添加されている大豆油に含まれる 18:3n3 から転換された結果であろう。その他の脂肪酸組成もそれぞれの飼料の脂肪酸組成を反映しているものと思われる。両区共時期が遅くなるに従って n3 系脂肪酸の占める割合が少なくなり、n6 系脂肪酸の占める割合が多くなっている中で、 $\Sigma n3/\Sigma n6$ 比は小さくなる傾向が有る。

飼料の脂肪酸組成の違いに起因すると思われる卵の脂肪酸組成の違いは認められるものの、その違いは僅かで、この程度の違いが卵質に大きな影響を及ぼすとは考えにくい。

2-3. 精液の分析値

表 7 に精液の一般成分と脂質クラスの分析結果を示す。一般成分では表記上タンパク質と書いてあるが、精子の主たる窒素源は核酸である。窒素からタンパク質への転換係数は 6.25 であるが、核酸では窒素の比率が一般のタンパク質とは異なる。この違いによって、乾物換算した場合の値が 100 を超える値になっている。水分含量が少ない精液ほどタンパク質が高い値を示しているが、これは固形物が精子であるので、精子の割合が高くなれば窒素量が多くなる (= タンパク質含量が高くなる) ので当然の結果である。精液の一般成分には区間差あるいは時期の違いによって生じる一定の傾向は認められな

表 7 精液の一般成分と脂質クラス

月・日	10 月 29 日		11 月 17 日		12 月 7 日	
飼料	EX	HP	EX	HP	EX	HP
精液の一般成分						
水分 (%)	92.6	91.2	92.6	92.4	91.6	92.0
タンパク質	7.62	9.25	7.47	7.67	8.59	8.18
(% 乾物)	103.0	105.1	101.5	101.1	101.9	102.1
脂質	0.84	0.70	0.68	0.76	0.89	0.53
(% 乾物)	11.4	7.95	9.24	10.0	10.6	6.62
灰分	1.49	1.66	1.44	1.50	1.71	1.58
(% 乾物)	20.1	18.9	19.6	19.8	20.3	19.7
精液の脂質クラス						
非極性脂質 (%)	33.91	33.26	35.76	31.65	35.57	37.89
極性脂質	66.09	66.74	64.24	68.35	64.43	62.11
非極性脂質 (%)						
SE	0.42	0.11	0.18	0.10	0.38	0.32
TG	0.16	0.14	0.20	0.05	0.04	0.24
DG	32.16	32.37	34.45	30.54	34.36	36.10
FFA	1.17	0.64	0.93	0.96	0.80	1.10
FC	-	-	-	-	-	0.12
極性脂質 (%)						
PEA	26.79	28.39	26.88	31.06	31.42	27.95
PS	1.15	0.50	1.70	2.32	0.93	1.91
PC	37.88	37.17	35.11	34.83	31.41	31.04
SM+LPC	0.08	0.18	0.22	0.09	0.25	0.28
未同定	0.19	0.50	0.34	0.05	0.42	0.93

い。脂質クラスは卵の場合には非極性脂質が主体であったのに、精液の場合は極性脂質が主体である点が大きく違う。両区共時期が遅くなるにつれて非極性脂質の占める割合が高くなり、極性脂質の占める割合が低くなっている様に思えるが、明確ではない。非極性脂質の主体はダイグリセライド(DG)で、極性脂質ではフォスファチジルコリン(PC)とフォスファチジルエタノールアミン(PEA)である。精液では卵と違ってTGではなくDGが多く、PCとPEAが多い理由は分からないが、卵の場合は卵中に含まれる蓄積脂質が主体であるのに対し、精液の場合は精子の膜脂質が主体であると考えられる点が脂質クラスの違いになって表れているのであろう。

精液の脂肪酸組成を表 8 に示す。卵と精液では脂肪酸組成が大きく違う。卵に比べて精液

では 18:1n9 と 18:2n6 が占める割合が少なく、16:0, 20:2n6, 20:5n3, 22:6n3 の占める割合が高い。18:3n3 は含まれない。18:1n9 は蓄積脂質の主体であること、18:2n6 は 20:2n6, 20:4n6 へと転換されること、18:3n3 は 20:5n3, 22:6n3 へと転換されること等を考えると、卵の脂質は蓄積脂質が主体であるが、精液の脂質は膜の構成成分を成す脂質である点が脂肪酸組成にも表れているものと思われる。

両区間の比較では 16:0, 16:1n9, 18:1n9 は常に EX<HP で、18:4n3, 20:1n9, 20:2n6, 20:5n3 は EX>HP である。炭素数と二重結合が少ない脂肪酸は HP 区に多く、炭素数と二重結合が多い脂肪酸は EX 区に多い様である。 $\Sigma n3$ と $\Sigma n6$ は常に EX \geq HP で、 $\Sigma n3$ は時期が遅くなるにつれて少なくなる傾向が有り、 $\Sigma n6$ は逆に増える傾向が有る。 $\Sigma n3/\Sigma n6$ は EX<HP で、時

表 8 精液の脂肪酸組成

月・日	10月29日		11月17日		12月7日	
飼料	EX	HP	EX	HP	EX	HP
14:0 (%)	0.48	0.57	0.55	0.48	0.53	0.59
16:0	20.83	22.82	22.07	22.86	21.85	22.95
16:1n9	0.67	0.95	0.42	0.83	0.69	0.92
18:0	3.98	4.02	4.04	4.22	4.21	4.13
18:1n9	10.62	11.33	10.53	11.16	10.93	11.06
18:1n7	4.60	4.75	4.52	4.79	4.87	4.48
18:2n6	4.17	4.33	4.31	4.26	4.42	4.50
18:4n3	0.71	0.46	0.70	0.43	0.65	0.28
20:1n9	0.95	0.79	0.92	0.80	0.94	0.77
20:2n6	8.00	6.65	8.12	7.64	8.26	6.66
20:5n3	9.14	9.05	9.80	9.19	8.30	7.88
22:5n3	1.02	0.93	0.91	0.93	0.91	0.84
22:6n3	32.58	30.36	30.68	30.36	29.18	30.95
未同定	2.24	2.98	2.43	2.04	4.27	4.00
Σn3 (%)	43.45	39.96	42.09	40.91	39.04	39.67
Σn6 (%)	12.17	10.98	12.43	11.90	12.68	11.16
Σn3/Σn6	3.57	3.64	3.39	3.44	3.08	3.55
DHA/EPA	3.56	3.35	3.13	3.30	3.52	3.93
DHA/18:1n9	3.07	2.68	2.91	2.72	2.67	2.80

期が遅くなるに従って小さくなる傾向が有る。DHA/18:1n9はEX区では時期が遅くなるにつれて小さくなるのに、HP区では逆に僅かずつ大きくなる傾向が認められる。DHA/EPAは時期によるバラツキが大きく、一定の傾向は認められない。

両区間と時期の違いによって脂肪酸組成に違いは認められるが、その違いの程度は小さく、この程度の違いが精子の質に大きな影響を及ぼすと考えerるのには無理が有るように思う。

2-4. 人工授精

11月17日にEX区16尾、HP区21尾から得た卵を用いて人工授精した後孵化槽で卵管理し、12月7日に検卵して求めた発眼率、12月

16日に調べた孵化率と孵化仔魚の奇形率を表9に示す。発眼率はEX区の方がやや高いが、孵化率はHP区の方が可也高い。発眼率×孵化率/100で得られる総卵数に対する孵化仔魚の率はEX区:33.2%、HP区:37.2%となり、HPの方がEXより単位卵量当たり多くの孵化仔魚が得られることになる。更に総卵数に対する正常な孵化仔魚の率はEX: $33.2 \times (1 - 0.158) = 28.0\%$ 、HP: $37.2 \times (1 - 0.027) = 36.2\%$ となり、HP区の方が単位卵量当たり遥かに多くの正常な孵化仔魚が得られることになる。

その後も仔魚が浮上するまで孵化槽で飼育を継続し、浮上し

た段階で孵化槽から屋外の池に魚を移した。その時に尾数を計数し、総卵数に対する池出しをした魚の率(池出し率)を求めた。結果は表10に示す。池出し作業をする時に奇形の魚の選別などはしてられないので、この数字には奇形の魚も含まれている。奇形の魚の全てが池出し時まで生き残っていたとは思えないが、生き残っていたと仮定して、総卵数に対する正常な魚の池出し率はEX: $33.72 \times (1 - 0.158) = 28.4\%$ 、HP: $35.98 \times (1 - 0.073) = 33.4\%$ となり、HP区の方が5%ほど多く正常な魚が得られることになる。5%と云うと大した違いでは無い

表 10 稚魚の池出し率
(11月17日分)

飼料	EX	HP
総卵重 (g)	5400	6970
平均卵重 (mg)	74.3	72.4
総卵数 (個)	72678	96271
池出し稚魚数 (尾)	24510	34641
池出し率 (%)	33.72	35.98

表 9 発眼率、孵化率、奇形率
(11月17日分)

飼料	EX	HP
発眼率 (%)	54.9	47.2
孵化率 (%)	60.5	78.8
奇形率 (%)	15.8	2.7

表 11 発眼率 (12 月 7 日分)

飼料	EX	HP
発眼率 (%)	30.5	43.3

ように思えるが、事業として種苗生産を行う場合には数百万粒単位で採卵するので、結構大きな違いとなる。

12 月 7 日に行った人工授精の結果は、発眼率までしか調べなかったが、表 11 に示すように EX 区が 30.5%, HP 区が 43.3% で、もし 11 月 17 日分のように卵管理を行って孵化率、奇形率、池出し率などで調べ、同様の結果が得られたと仮定すると、11 月 17 日分よりも遥かに大きな違いとなっていた可能性が有る。

以上の様に、飼育試験では EX の方が HP より良い結果が得られ、体成分、卵と精液の性状や分析値には EX と HP で殆ど違いは無かったのに、再生産試験では HP の方が EX より良い結果が得られた。

3. 回復試験

死魚の発生は両区共採卵・採精後 1-2 カ月以内に集中しており、それ以降は殆ど死亡することなく順調に回復した。死魚数は雄の方が多かった。雄は雌より衰弱が酷かった可能性と、雌と違って雄は複数回採精されているので、魚体の傷みが酷かったことが考えられる。10 月 28 日から翌年の 8 月 4 日まで生き残った魚の率を表 12 に示す。HP 区の方が可也生残率が高く、回復力が強かったことが分かる。

表 12 回復試験後の生残率

飼料	EX	HP
個体数 (尾)		
10 月 28 日	106	92
8 月 4 日	60	64
生残率 (%)	56.6	69.6

要約

・エクストルーダーペレット (EX) とハードペレット (HP) で長期間ニジマスを飼育し、飼育成績、体成分、再生産効率などに及ぼす影響を比較した。

・成長、飼料効率、タンパク質効率などの飼育成績は HP より EX の方が良かった。

・魚が 1Kg 近くの大きさになると肥満度、内臓体重比、肝臓体重比、腹腔内脂肪蓄積組織体重比などに両区で大きな違いは無く、EX の方が魚体に脂質が蓄積されやすい傾向は認められなかった。これは小型魚で得られる結果と可也異なっていた。

表 13 雌性成熟魚率の経時変化

飼料	EX		HP	
	成熟率	累積	成熟率	累積
10 月 29 日	1.9	1.9	8.7	8.7
11 月 17 日	15.1	17.0	22.8	31.5
12 月 7 日	17.9	34.9	13.0	44.5

単位 :%

・表 13 に示すように HP で飼育された魚の方が性成熟が早く、しかも性成熟する個体の率が高いように思えるが、これは屋内での水槽の位置関係によって HP 区の方が照度が低かったことと関係しているのかも知れない。

・精液のスパーマトクリット値と精子の運動性に両区間で違いは認められなかった。

・卵の大きさは EX 区の方が HP 区より常に大きかった。但し、卵の大きさと卵質の間に相関は認められなかった。両区共時期が遅くなるに従って卵が大きくなる傾向が認められた。

・卵と精液の成分 (一般成分、脂質クラス、脂肪酸組成) に両区間で大きな違いは認められなかった。

・採卵可能な卵体重比に両区間で違いは認め

られなかった。

・受精卵の孵化率は EX 区が低く、しかも孵化仔魚の奇形率が高かった。よって単位卵量から得られる正常な仔魚の数は HP 区の方が多いことになる。但し、この結果は一度の事例であるので、今後事例数を増やして再現性を確認しておく必要が有る。

・採卵・採精後の魚の生残率は HP 区の方が高かった。これは EX 区の方が魚が大きかったことと関係しているのかも知れない。一般に魚が大きくなるに従って麻酔、酸素不足、取扱いなどのストレスに弱くなるので、取上、麻酔、採卵、採精などのストレスに耐えられなかったのかも知れない。この点については再検討が必要である。

考察

EX と HP で比較を行ったところ、飼育成績は EX の方が優れ、魚体成分、卵と精液の性状と分析値は両区で違いが無いのに人工授精の結果は EX の方が劣る傾向が認められた。飼育成績は EX の方が優れているので、飼料の物性やタンパク質、脂質、炭水化物、灰分などの主要栄養素が原因ではないと判断出来る。もしこの結果に再現性が有るのであれば、原因は今回調べた主要成分以外の要因に有るのではないかと考えられる。EX は高湿高温高圧下で製造する為に水や高温に弱いビタミン C などの微量成分は高率で分解されている可能性が有る。

今後本試験の再現性を確認すると共に、耐水性や耐熱性の低い微量栄養成分が飼料製造法の違いによって如何変化するかと、微量栄養成分の変化がニジマスの再生産効率に如何影響するかを明らかにする必要が有る。

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

- 1) 金井泉, 金井正満: 赤血球数 (RBC). 臨床検査法提要 (改定増補第 26 版), 金原出版, 東京, VI .9-15 (1972)
- 2) 金井泉, 金井正満: ヘマトクリット値 (Ht). 臨床検査法提要 (改定増補第 26 版), 金原出版, 東京, VI .22-25 (1972)

“緑茶飲料市場”を創造した驚くべきヒット商品

— 『お〜いお茶』株式会社伊藤園 —

田形 暁作*

*TAGATA Yoshinari (TAGATA 食品企画・開発)

Key Words: 緑茶飲料・ヒット商品・商品開発・ブランド化・マーケティング戦略

はじめに

株式会社伊藤園は創業者の本庄正則氏が1966年(昭和41年)に伊藤園の前身である「フロンティア製茶株式会社」を静岡県静岡市に設立したことから、お茶ビジネスをスタートする。この“お茶”が後に伊藤園に大成功をもたらすことになる。当時、業界では量り売りが常識となっていたが、包装したパッケージ茶を、スーパーや食料品店などに直接売り込むことにした。“ルートセールス”という販売方法で定期的に店舗を巡回して、直接注文を受ける手法で、成功を納めていった。1969年(昭和44年)5月、お茶の間屋から商号を譲り受け、フロンティア製茶株式会社から「株式会社伊藤園」に改めた。その後、本社を東京に移し、現在の静岡県牧之原市に「静岡相良工場」を建設し、生産体制を集約した。以後、株式会社伊藤園と『お〜いお茶』について記述していく。

1. 伊藤園の会社概況

2012年4月期の売上高は3,323億円、営業利益161億円であった。資本金は約199億、従業員は5,285名である。また、連結子会社は国内外に24社ある。業務部門は茶葉部門(売上比

9%)、飲料部門(売上比90%)であり、さらに、飲料部門には日本茶飲料(売上比49%)野菜飲料(売上比13%)、コーヒー飲料(売上比7%)、紅茶飲料(売上比5%)、中国茶飲料(売上比5%)などがある。売上高の約半分は日本茶飲料であり、その柱商品は『お〜いお茶』である。

2. 伊藤園の経営理念

お客様第一主義

すべてのお客様を大切にすることが経営の基本である



「製品開発理念」

5つのコンセプトに基づき、お客様にご満足いただける製品開発を目指している。

自然……………自然の素材を活かした製品
健康……………健康的な生活をサポートする製品

安全……………安全で安心して楽しめる製品
良いデザイン……………おいしさをストレートに伝えるデザイン
おいしい……………幸せを感じるおいしさ

3. 伊藤園の歩み

- 1966年・伊藤園の前身「フロンティア製茶株式会社」を静岡県静岡市に設立
1969年・商号を「株式会社伊藤園」に変更
1971年・東京都新宿区に本社移転
1972年・高速自動包装機（スイス・インダストリアルゲゼルシャフト社製）導入。茶葉鮮度保持のための真空パック技術を開発
1974年・「静岡相良工場」（現静岡県牧之原市）建設により、生産体制を集約化
1979年・中国土産畜産進出口総公司与日本で初めてウーロン茶の輸入代理店契約を締結
・ウーロン茶（茶葉）の販売を開始
1981年・「缶入りウーロン茶」開発、販売開始
・スリランカ直輸入の紅茶を販売開始
1982年・有機肥料による緑茶栽培技術の確立
・茶葉業界で初めて包装茶に「製造年月日」「賞味期限」を表示
1985年・缶内の酸素除去により、緑茶の品質を保持する「T-Nブロー製法」を確立し、「缶入り煎茶（『お〜いお茶』の前身）」の開発に成功、販売開始
1986年・「中央研究所」（現静岡県牧之原市）新設



- 1989年・「缶入り煎茶」を『お〜いお茶』に名称変更
・「お〜いお茶新俳句大賞」開始



- 1990年・売上高 500 億円を突破
1992年・「充実野菜」発売
・東京都渋谷区に本社移転

- 1995年・売上高 1,000 億円を突破
1996年・『お〜いお茶』500ml ペットボトルを発売
・緑茶包装工場（福島県福島市）を新設
・「ナチュラル・クリアー製法」（緑茶ペットボトルの抽出法）により特許取得
・緑茶飲料開発の功績により、「農林水産大臣賞」を受賞



- 1997年・FDA（米国食品医薬品局）の承認を受け、テキサス大学 M.D. アンダーソンがんセンターの臨床試験に協力
1998年・東京証券取引所市場一部に指定
2000年・ホット PET（ホット対応ペットボトル）を他社に先駆けて発売
2001年・売上高 2,000 億円突破
・宮崎県都城地区で茶産地育成事業（新産地事業）を開始
2004年・『お〜いお茶 濃い味』発売
・通信販売事業を開始



- 2005年・取っ手付きペットボトルを発売
2006年・大分県内でも茶産地育成事業を開始
2007年・売上 3,000 億円突破
2009年・『お〜いお茶』発売 20 周年（2 月）。20 年間の累計販売本数は 150 億本（500ml ペットボトル製品換算）
2011年・『お〜いお茶』が 2011 年度グッドデザイン・ロングライフデザイン賞を受賞
・「2 つの働き カテキン」シリーズ（特定保健用食品）発売

4. 缶入り緑茶への挑戦

1) 「ウーロン茶との出会い」

1970 年代から中国にわたり、ウーロン茶の特性や品質を産地ごとに調査、研究開発を進め、1979 年（昭和 54 年）8 月に日本ではじめてと

なるウーロン茶葉輸入代理店契約を中国土産畜産進出口総会社と結んだ。当時、ウーロン茶は日本の中華街で油脂分の多い中華料理に適したお茶として既に一部の人には知られており、高度経済成長とともに欧米の食文化が日本人の食生活に浸透したため、健康面への配慮から注目され始めていた。また、人気の女性歌手が、テレビ番組でスタイルの秘訣を聞かれたとき、「毎日ウーロン茶を十杯くらい飲んでいて」と答えたのをきっかけにウーロン茶が爆発的なヒット商品になった。

2) 「冷やして飲める缶入りウーロン茶」

伊藤園は中国から輸入しているウーロン茶を、日本人にいつまでも愛飲される飲み物に育てるためにはどうすればよいかを考えていた。既に、研究所では缶入り緑茶の研究が進められていたが、ウーロン茶の缶入りの開発もあわせて進めるようにした。その結果、ウーロン茶の茶葉発売からわずか2年後の1981年（昭和56年）、缶入り茶文化の先駆けとなった“缶入りウーロン茶”の開発に成功し、販売を開始した。緑茶よりも技術的に飲料化しやすいウーロン茶が先に商品化された。黒地のラベルに190gのウーロン茶が入ったこの商品こそ、伊藤園が飲料メーカーとして市場へ本格的に進出した記念すべき商品である。同時に、この缶入りウーロン茶は、清涼飲料分野に一大革命をもたらすことになる。甘みのない“無糖飲料”のきっかけを作ったのである。

3) 「缶入り緑茶の開発」

伊藤園は真空パック茶にはじまり、ウーロン茶（茶葉）や缶入りウーロン茶といった商品開発には常にパイオニア精神をもって、従来の市場にはなかった良質な商品を世の中に広めることを目指してきた。1982年（昭和57年）には、より健康で安全な高品質のお茶づくりを目指した「有機農法栽培茶」を確立。業界に先駆けて包装茶に賞味期限を表示するなど、緑茶の

新しい分野への挑戦も進めてきた。また、すでに1968年（昭和43年）には、新国劇の島田正吾氏を起用し、「お〜いお茶」のフレーズで話題になった、茶業界では初のテレビコマーシャル放映を行った。このように伊藤園は緑茶販売に多くの力を注いできた。これは「伊藤園の原点は緑茶にある」という思いを常に抱いてきたからにはほかならない。

長年にわたる緑茶への熱い思いは、缶入りウーロン茶の発売から4年後の1985年（昭和60年）、世界初の「缶入り煎茶」の開発の成功によって具現化した。「缶入り煎茶」の研究開発にはウーロン茶と異なり、“不発酵”という緑茶の特長そのものが大きな壁としてあった。日本人が緑茶を好むのも、この不発酵ゆえの茶葉自体の味わいや風味、また、淡さや清涼感にあるといえるだろう。ところが、すでに発酵されている紅茶やウーロン茶は、煎じた後も味や風味が比較的に変わらないのに対し、緑茶は時間の経過とともに酸化してしまう性質がある。いわゆる「褐変（かっぺん）」と呼ばれる褐色に変化してしまう現象である。緑茶を缶詰めにしようとするこの劣化現象が起こり、飲む際に焼きイモのような風味が生じてしまうのである。缶入りウーロン茶に先行して研究開発に着手しながら、缶入り緑茶の商品化が後手になってしまった理由はここにあった。

お茶に携わる関係者の長年の夢であった緑茶の飲料化は非常に難しい技術であった。およそ10年にわたる研究のなかで、缶のヘッドスペースに窒素を吹き込み、酸化を抑える技術「T-N（ティー・ナチュラル）ブロー製法」が開発され、1985年（昭和60年）、「缶入り煎茶（緑茶）」の発売にいたった。この飲料化の成功により、缶入り緑茶はアウトドア飲料としても消費者に受け入れられるようになり、ウーロン茶に引き続いて緑茶にも新しい市場を切り開くことができた。不発酵茶の褐変を防ぐ新技術によって、

焼きイモ臭などを取り除く事に成功した後も、缶入り緑茶の品質向上に対する探究心は止むことはなかった。缶入り緑茶が単に流行に終わることがなく、これからも1年中を通じていつでも、どこでも愛飲されるためには、限りなくお茶本来の味にしなければならないという考えがあったからである。

緑茶やウーロン茶を缶詰めにする場合、茶葉からエキスを抽出した濃縮液を仕入れて薄める方法が最も効率が良いが、伊藤園はお茶を生活文化とする日本人に対して、そのような方法はとらない。あくまでも茶葉から抽出する工程から始めるようにしているのだ。競争の激しい飲料業界で伊藤園が生き抜いてこられたのは、こうした姿勢が消費者に評価されたからであろう。

『お〜いお茶』は、味や風味の点で他社製品の追従を許さず、抜群のシェアを誇る商品となった。この理由は経済効率を重視した濃縮還元生産方式を採用せず、混ぜ物をしないで、あくまでも本物のお茶の味にこだわり続け、研究開発を怠らなかったからである。さらには、日本固有のお茶の文化をなんとしても大切にしたいという、お茶に対する深い理解と愛情が、『お〜いお茶』の大ヒットにつながったのである。

5. 缶からペットボトルへ

1982年の食品衛生法の改正によりペットボトルは清涼飲料水容器として認められた。これにより清涼飲料市場は、リキャップできるペットボトルへの需要が急増していった。この傾向は、無糖飲料市場にも広がり、緑茶飲料も缶入りからペットボトル入りへと確実に推移する傾向を示していた。伊藤園は1990年に業界初のペットボトル入り緑茶飲料を発売した。特に、1.5L以上の容器の需要が市場を次第に拡大す

る傾向を示した。この傾向はそれまで家庭で急須を使って入れられていたお茶が、手軽さに加え、伊藤園独自の製法による本物と全く変わらない味と風味に消費者が信頼を寄せ始め、ペットボトル入り緑茶にとって代わろうとしているのだと分析している。

6. 『お〜いお茶』のブランドヒストリー

1968年 ・『お〜いお茶』のフレーズを世の中に広めた俳優の島田正吾氏は合計11本のCMに出演



1989年 ・「缶入り煎茶」を『お〜いお茶』に名称変更
・「伊藤園お〜いお茶新俳句大賞」が開始



1990年 ・世界で初めてのペットボトル入り緑茶飲料(1.5L)を発売



1993年 ・現在の定番、2Lを発売

1995年 ・女優の中谷美紀氏が『お〜いお茶』のCMキャラクターとして登場

1996年 ・オリや沈殿物を取り除く緑茶飲料の製法「ナチュラル・クリアー製法」の特許を取得
・500ml ペットボトルを発売

1999年 ・「お〜いお茶新俳句大賞」の応募作品が100万句を突破



- 2000年 ・「ホットPET（ホット対応
ペットボトル）」を他社に
先駆けて発売
- 2001年 ・『お〜いお茶 新茶』を発売
(季節限定の展開を開始)
- 2002年 ・累計販売本数が50億本を
7月 突破(500ml ペットボト
ル換算)
- 2003年 ・『お〜いお茶』が、
全ての茶系飲料の
中で販売量 No.1
ブランドに
- 2004年 ・渋みのきいた濃い
めの味わい『お〜
いお茶 濃い味』
の販売を開始
- 2006年 ・累計販売本数が100億本を突破(500ml
4月 ペットボトル換算)
- 2008年 ・俳優の三浦春馬氏が『お〜いお茶』の
CM キャラクターとして登場
- 2009年 ・『お〜いお茶』発売 20
周年
- 2009年 ・累計販売本数が150億
1月 本を突破(500ml ペッ
トボトル換算)
- 2011年 ・『お〜いお茶』が2011年度グッドデザ
イン・ロングライフデザイン賞を受賞
・累計販売本数が200億本を突破(500ml
ペットボトル換算)
- 2012年 ・『お〜いお茶 緑茶』を“香り一新”、『同
5月 濃い味』を“旨さ一新”してリニュー
アル発売



- 『お〜いお茶 濃い味』
「濃くておいしく、飲みやすい」
- ・新・後火仕上げ方式により旨みを
たたせ、より濃くておいしい緑茶
 - ・渋みの効いたコク豊かな濃度感、
後味に甘くさわやかな余韻
 - ・美容や健康への働きにより注目を
集めている「緑茶カテキン」を
500ml あたり、400mg 含有



- 『お〜いお茶 ほうじ茶』
「深香ばしいおいしさ」
- ・国産茶葉を丹念に焙煎
 - ・すっきりし後味でやさしい味わい
 - ・香ばしい香りとふくよかな甘み



- 『お〜いお茶 玄米茶』
「香ばしく、健やかに」
- ・香ばしい玄米の香りとふくよかな
甘み
 - ・はと麦、大麦、とうもろこしをブ
レンドしてさらに香ばしく
 - ・カフェインが少なめに、やさしい
味わい



7. 『お〜いお茶』ブランドの商品紹介



- 『お〜いお茶 緑茶』
「おいしさは、香り」
- ・無香料・国産茶葉 100%
 - ・新・後火仕上げ方式によって一層甘
い香り立ちと、豊かな味わいを愉し
める緑茶

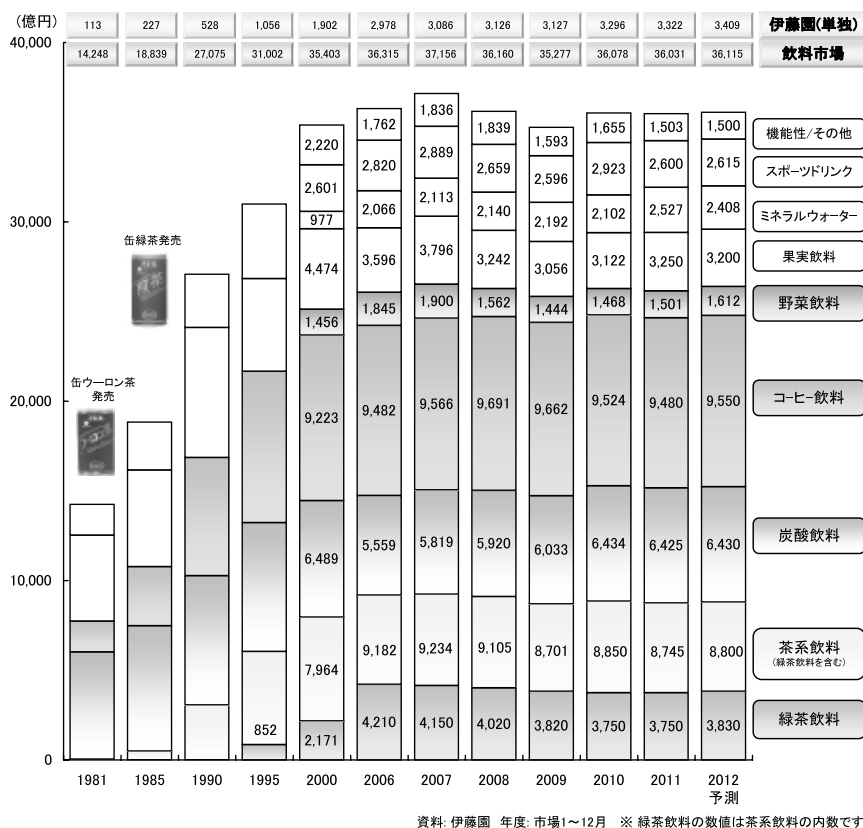


- 『ホットPET お〜いお茶』
お茶の葉からおいしさのために

8. 飲料市場の推移と伊藤園単独の販売推移

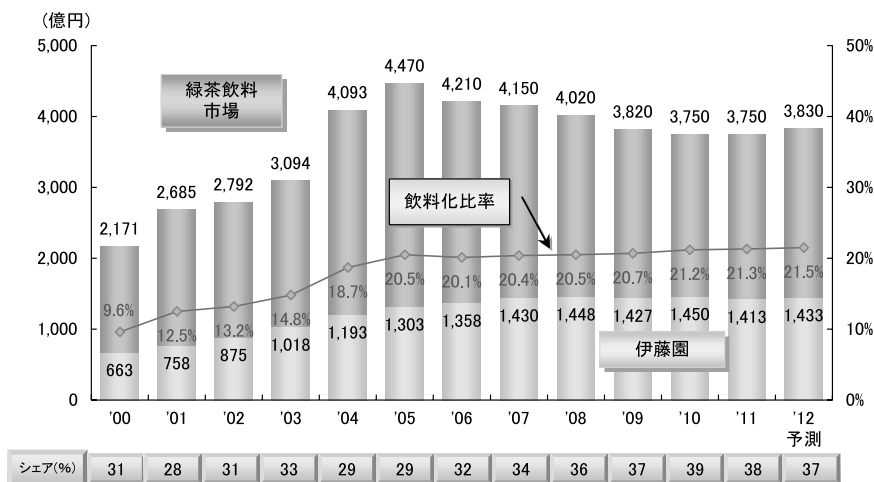
飲料市場推移は図1に示した。2000年までは順調に伸びてきたが、2001年以後は目立っ

た伸びは見られない。もっとも販売金額が多い年は2007年であり、3兆7,156億円であった。飲料市場の中で、商品カテゴリー別規模を2011年ベースで見ると緑茶飲料が3,750億円



資料: 伊藤園 年度: 市場1~12月 ※ 緑茶飲料の数値は茶系飲料の内数です

図1 飲料市場推移



資料: 伊藤園 年度: 1~12月

図2 緑茶飲料市場 (伊藤園が占める販売金額)

で構成比は 10.4%，緑茶飲料を含む茶系飲料は 8,745 億円であり，24.3%である。さらに，炭酸飲料は 6,425 億円で 17.8%，コーヒー飲料は 9,480 億円で 26.3%，野菜飲料は 1,501 億円で 4.2%，果実飲料は 3,250 億円で 9.0%，ミネラルウォーターは 2,527 億円で 7.0%，スポーツドリンクは 2,600 億円で 7.2%，機能性・その他飲料は 1,503 億円で 4.2%である。緑茶飲料市場規模の推移は 2005 年までは順調に伸びた。それ以後は若干落ちたが，2009 年からはほぼ横ばい状態になっている。また，緑茶飲料を含む茶系飲料も同じ傾向である。

次に，緑茶飲料市場の中で，伊藤園が占める販売金額を図 2 に示した。伊藤園の販売金額は 2008 年までは順調に伸び，2008 年の販売金額は 1,448 億円でシェアは 36%である。直近の 2011 年の販売金額は 1,413 億円であり，シェアは 38%となった。市場規模が若干落ちたが，伊藤園の販売金額はほぼ同じであるため，シェアは拡大した。

9. 『お〜いお茶』グッドデザイン・ロングライフデザイン賞受賞

10 年以上にわたり，デザインを継続して生産・販売されており，デザインを継承しつつ，品質の向上が図られていることが評価された。



10. 家計調査年報から茶飲料への支出金額

家計調査年報から 2 人以上世帯，単身世帯の茶飲料への支出金額状況をまとめた。但し，ここでの茶飲料は緑茶，ウーロン茶，紅茶，麦茶である。図 3 には 2000 年から 2009 年までの 2 人以上世帯の茶飲料への支出金額を示した。2000 年から 2007 年までは順調に支出金額は増加しているが，それ以後の伸びはなくほぼ同じである。この傾向は図 1 の飲料市場動向の茶系飲料とほぼ同じ傾向である。表 1 には年齢別の支出金額を示した。支出金額が多いのは 50 ～

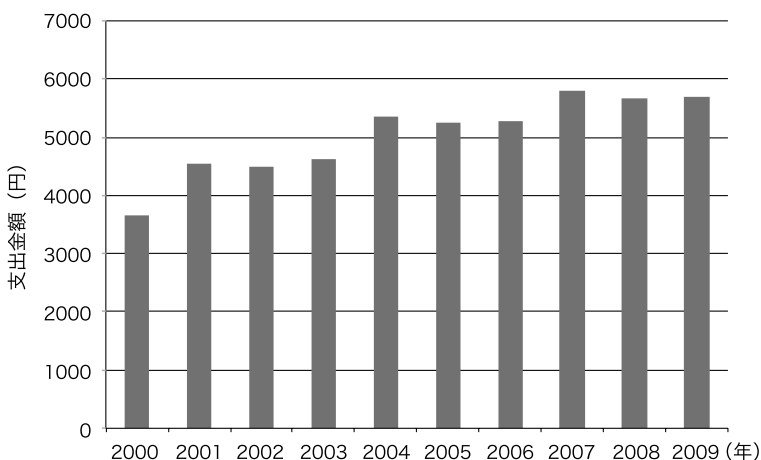


図 3 茶飲料の 1 世帯当たりの年間支出金額 (2 人以上世帯)

※茶飲料は液体のみであり，緑茶，ウーロン茶，紅茶，麦茶である。
(出所；家計調査年報)

表 1 2009 年度 年齢別の 1 世帯当たり年間支出金額 (2 人以上世帯)

	支出金額 (円)
2 人以上 世帯の平均	5,700
～ 29 歳	5,161
30 ～ 39 歳	5,678
40 ～ 49 歳	6,203
50 ～ 59 歳	7,253
60 ～ 69 歳	5,544
70 歳～	3,893

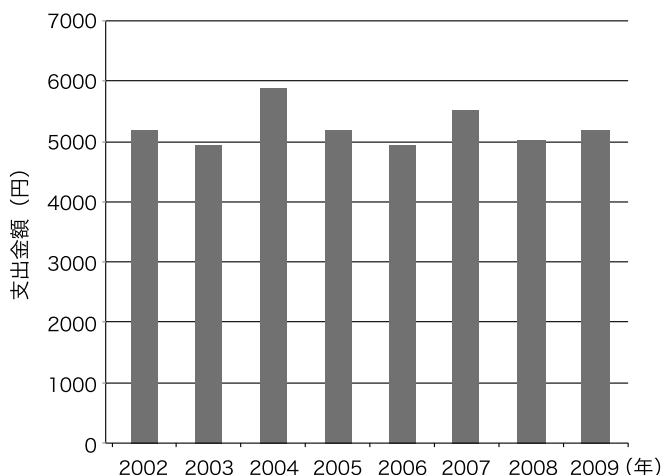


図4 茶飲料の単身世帯当たりの年間支出金額

※茶飲料は液体のみであり、緑茶、ウーロン茶、紅茶、麦茶である。
(出所；家計調査年報)

59歳であり、平均の129%であった。最も少ないのは70歳以上の世帯であり、平均の68%であった。この世帯は茶葉からお茶を飲んでおられる世帯と推定する。図4には2002年から2009年の単身世帯の茶飲料への支出金額を示した。まず注目すべきは、2002年から2009年までの支出金額がどの年度においても2人以上世帯より多いことである。参考までに2人以上世帯の2009年度の緑茶茶葉支出金額は4,870円、紅茶茶葉は825円、他の茶葉は1,334円である。単身世帯の2009年度の緑茶茶葉支出金額は2,921円、紅茶茶葉は283円、他の茶葉は529円である。このことから、2人以上世帯の茶葉支出金額は単身世帯に比較すると圧倒的に多いことが分かる。

11.

『お〜いお茶』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をチェック用に使っている(図5)。

先ず第一に『Product』ありきである。『Product』

には商品コンセプト、商品仕様、ネーミングなどを決定しなければならない。

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

第三は『Price』である。

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、専門店なのか、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。さらに、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、『お

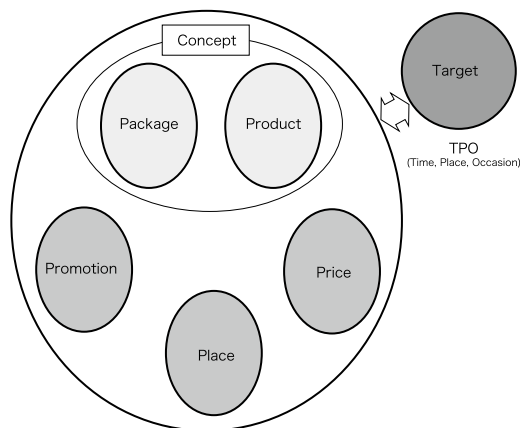


図5 商品開発5P; 開発品はユーザーの手元に届く仕組みになっているか

『お〜いお茶』を整理してみる。

『Product』には2つの特長がある。

第一は国産茶葉を100%使用している。伊藤園は国産茶葉の約1/4を占める取扱量がある。おいしさを生むのは茶葉の品質である。そのために、社員自らが茶産地や茶市場に出向き、茶葉の品質を見極めたうえで仕入れを行う「直接仕入れ」を行っている。また、茶原料の一部については、緑茶飲料用の高品質な茶畑を生産していただく契約を茶農家と結び直接取引を行う茶産地育成事業に取り組んでいる。従って、緑茶のおいしさを生む茶葉の生産、仕入れに注力している。「直接仕入れ」「茶産地育成事業」をしているのでトレーサビリティを完備することができ、生産者の追跡が可能になった。さらに、放射性物質の検査体制も整えた。このように、茶葉の品質と安全性にこだわっている。

第二は製造方法である。独自の「自然抽出・フレッシュ製法」である。「自然抽出技術」なので無香料・無調味で、かつ、自然の茶葉そのままのおいしさが出せる。また、「フレッシュ製法」なので緑茶の香りとおいしさの鮮度を保持できる。フレッシュ製法は「ナチュラル・クリアー製法」（オリや沈殿だけを取り除き、緑茶本来の水色とおいしさを守る特許製法）+「ティー・ナチュラル製法」（お茶本来の風味をまもるため、酸素を取り除く製法）の2つの製造技術からなり、『お〜いお茶』のおいしさを引出し、いつまでも鮮度を保持している技術である。さらに、使用する水はおいしさを引き出すため「純水」を100%使用している。

『Package』はペットボトルの軽量化を計画し、具体的には従来のペットボトルを薄肉化し、重量を約30%軽減するとともにラベルの厚さを45μmから20μmにした。500mlは2010年から『お〜いお茶 緑茶』と『同 濃い味』の2品で実施。2Lボトルは2011年から販売エリア限定でスタートしている。また、『お〜いお茶』のホッ

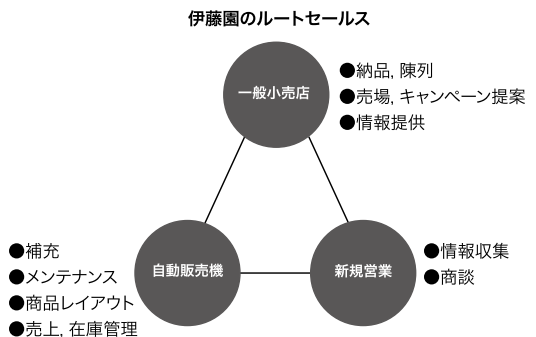
ト対応ペットボトルはおいしさを逃がさないために、専用のペットボトルを開発した。

具体的には緑茶のおいしさにとっての大敵である酸素の侵入をブロックする5重の層から構成される。

『Price』は『お〜いお茶』の主要4品“緑茶”、“濃い味”、“ほうじ茶”、“玄米茶”の価格は同じサイズであれば同一価格にした。ちなみに、500ml ペットボトルは140円/1本（税抜き）である。

『Place』は伊藤園特有のルートセールス・システムを採用している。

全国に約200拠点ある営業拠点から、その販売網を活かし、お客様のもとへ伊藤園の商品をダイレクトに届けている。最前線の営業員が、お客様を直接訪問することによるコミュニケーションの構築、売り場提案、さらには付加価値の提供を行いながら、マーケットの生きた情報を肌で感じられることが「ルートセールス」の特長であり、強みである。



直接営業員が製品の納品を行うことができないお客様についても、店舗を訪問し、定番商品の売り場確保や販売促進の強化を図る「フィールドマーケティング」を行い、お客様と伊藤園を結ぶ架け橋の役割を担いながら、きめ細かなサービスを提供している。

「STILL NOW」の精神とは「今でもなお、お客様は何を不満に思っておられるか」という問題意識を常に持ち、製品やサービスを通じてお

お客様の不満に応えるという姿勢で、「お客様第一主義」を実践するための伊藤園の中心的な考えである。営業の現場から絶えず寄せられるお客様の要望や不満は、製品開発にも活かされ、ヒット商品を生み出している。さらに、社員が日頃の営業活動などから肌で感じているアイデアやお客様からいただいた意見・要望を社内提案できる「Voice 制度」も、自らの提案内容が商品として具現化されるなど、社員のモチベーション向上にも貢献している。『Promotion』は俳優の三浦春馬氏や中谷美紀氏を『お〜いお茶』のCMキャラクターとして登場させ、適宜、テレビCMを打っている。また、啓発活動としては、2000年以降、一般消費者を対象としたフォーラムなどを実施している。

おわりに

伊藤園は創業者の本庄正則氏が1966年（昭和41年）に伊藤園の前身である「フロンティア製茶株式会社」を静岡県静岡市に設立したことから、本格的にお茶ビジネスをスタートする。お茶に狙いが定まると、これまでにない新たな販売戦略を打ち出した。包装したパッケージ茶である。当時、業界では量り売りが常識となっ

ていた。パッケージ茶をスーパーや食料品店などに直接売り込んだ。これが消費者、スーパーなどの小売業からも喜ばれた。さらに、パッケージ茶の伸びも、お茶を飲む家庭が減って来ることから、「缶入り煎茶」の商品化を進めていった。先に、「缶入りウーロン茶」を発売し、ビッグ市場を構築したが、「缶入り煎茶」の開発は継続し、1985年「缶入り煎茶」の開発に成功し販売を開始した。これが『お〜いお茶』の前身である。1989年『お〜いお茶』ブランドが登場し、1990年には世界で初めてペットボトル（1.5L）の緑茶が販売された。500mlのペットボトルの発売は1996年である。飲料市場での『お〜いお茶』ブランドのブランド別販売シェアは41.9%であり、2位の22.8%のほぼ倍である。（日経POS2011年1月～12月金額ベース）また、2011年12月時点までの『お〜いお茶』の発売からの累計本数は200億本を突破した。これは500mlペットボトル換算で縦に並べると地球約100周分になる。今後も今まで以上に進化するために、新たな「お茶のこだわり」を見出し、さらなる成長を目指されることを期待したい。

[参考資料]

- 1) お茶に一生をかけた男本庄正則の生涯編著；「財界」編集部 発行者；村田博文発行所；株式会社財界研究所
- 2) 社内資料「CSR 報告書 2012」, 「CORPORATEBOOK2012」, 「DRINKLINEUP2012」



“薬膳”の知恵 (75)

Key Words : 薬膳 ■ 養生茶 ■ 生理 ■ 月経病

荒 勝俊*

成人女性の生理周期は、生理が始まった日から次の生理が始まる前日までの日数で示され、一般に理想は28日周期（24～35日が正常な範囲）で、周期は一定していることが重要である。

女性特有の生理痛や生理不順は、中医学において“月経病”と総称され、特に現代女性の発病率が高くなっている。“月経病”は、生理周期、生理期間、月経血の量・色・質の異常と、これに伴って出現する症状を特徴とする病気である。その原因として、めまぐるしく展開する仕事環境の中で精神的な緊張が長く続き、生活のリズムや食生活が乱れる事で体内のホルモン分泌系統や自律神経系統が乱れ引き起こされる場合が多い。またストレスが溜まると肝機能に悪影響を及ぼし、“肝鬱気滯血淤”の状態になり、生理不順や生理痛の原因となる。

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、身体の内を整え、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、月経病改善にもつながる考え方である。

中医学の基礎概念である陰陽五行学説に基づき、健康管理や病気治療のために食材の持つ様々な機能を組み合わせて作った“薬膳茶”を飲む事で、人が本来もっている臓器の機能を回復させ、身体の内を整える事で月経病に対する予防ができると考えている。



1. 生理不順と中医学



成人女性の生理周期は、生理が始まった日から次の生理が始まる前日までの日数で示され、通常は24～35日が正常な範囲（理想は28日周期）で、周期は一定していることが重要である。また、生理期間は生理開始日から完全に生理が終わる日までの日数で示され、通常3～7日が正常な範囲である。月経血の色は暗赤色で、固まりが少ないのが正常で状態である。月経血の量は、初日はやや少なく、2～3日目は多く、その後少なくなる。

* 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)

中医学において、生理不順は“月経病”と称され、特別な病気でない限りホルモンバランスの乱れが原因と考えられている。ホルモンは脳辺縁系・視床下部の影響を受けて分泌され、生活習慣や食生活の乱れによって生理不順が引き起こされると考えられる。

中医学における“月経病”の診断は個人の体質やその時々症状、体調を考慮したうえで治療方法などが決められる。即ち、①月経量（多い・少ない・ふつう）、②月経血の色（淡・紅・紫・暗）、③月経の状態（さらっとしている、粘っこい、血の塊がでる）、④おりもの（色・におい・量）、⑤月経に伴う不快な症状（腰痛・腹痛・嘔吐・頭痛・乳房が脹る）と、問診（食べ物の嗜好や睡眠時間、食欲、排便の状態などの生活習慣）による個人の状態の把握から、なぜ周期の変調や月経量が変化したかを中医学独特の診断方法により診断し、7つのタイプに分類される。

1) 血虚タイプ

体内の血の不足により、無月経、生理不順、貧血などを起こし、経血が少なく、生理日数も短い。

月経中から月経後にかけて出血により体が消耗しているので、血液を補う食事を心がける。血液を補う食材として、黒豆、赤豆、もち米、小麦、黒豆、豆乳、ほうれん草、小松菜、豚や牛のレバー、鮪の赤身、牡蠣、蜆（しじみ）、黒胡麻、胡桃、棗、レーズン、プルーン、ブルーベリーなどがある。また、薬膳茶としては、竜眼茶、ライチ茶、クコの実茶、などに効果がある。

また、頭や目の使いすぎは血を消耗させるので、長時間のパソコン作業を避け、睡眠をしっかりとする事も重要である。

2) 瘀血タイプ

血が経絡に停滞し、気・津液の流れを阻むことにより関節痛などの固定痛、内出血などの症

状を呈する。血が全身に限らず供給されないため、皮膚が乾燥し易く、痺れや皮膚の知覚低下を引き起こす。原因としては、食生活の偏りや運動不足、ストレスなどにより血の流れが停滞し、経血の排出が困難になる。

血の流れを改善する食材として、韭、ラッキョウ、青梗菜、酢、紅花、鬱金、などを食べると良い。

3) 肝鬱気滞タイプ

肝鬱気滞とは、“肝”が精神的ストレスによって傷害される事で肝気が停滞し、鬱々とした気持ちが生じる。更に、ストレスで気の流れが悪くなるとホルモンバランスに影響を与え、生理不順を引き起こす。生理前にイライラが強くなったり胸が張ったりする場合は、気滞の可能性がある。気滞が続くと瘀血や水滯症状に移行する場合がある。

ストレス発散として、太極拳や気功などの呼吸法やストレッチでリラックスできる時間を作ると良い。

肝鬱気滞タイプの生理不順には、香りの高い食べ物を摂ることで鬱々とした気持ちを発散する事で改善される。食材としては、春菊、三つ葉、茗荷、シソの葉、パセリ、セロリ、蜜柑、レモン、グレープフルーツ、金柑、柚子などの柑橘類が良い。また、薬膳茶としては、ジャスミン茶などで気分を落ち着かせるのが良い。

4) 血寒凝滞タイプ

“寒”の性質は、流れを滞らせる、収斂作用があり、これが血に入ることにより流れが緩慢になり、運行の失調をまねきます。血寒は以下の2つのタイプに分けられます。身体が冷える事で体全体の機能が低下し、生理不順を引き起こす。

血寒凝滞タイプの人には、月経中に冷たい食べ物は避け、身体が冷える事に対し気を配る事が肝要である。血寒凝滞タイプの人には、体を冷やす性質のある食材（胡瓜、トマト、冬瓜、苦瓜、

レタス、茄子、牛蒡、大根、西瓜、梨、バナナ、柿、レモン、豆腐、豆乳、緑豆、など）は極力避け、体を温める温性の食材を摂る事が良い。体を温める食材として、もち米、菰、大蒜、葱、生姜、羊肉、唐辛子、胡椒、シナモン、黒砂糖、などが良い。

5) 気虚タイプ（脾気虚タイプ・腎気虚タイプ）

身体のエネルギの源である“気”を作り出す“脾”の働きが低下する事で、疲れ易くなる。主な原因として、睡眠不足、過労、多汗（過度な運動など）、体力の消耗、無理なダイエット、などが考えられる（脾気虚タイプ）。

また、出産過多、過労、性交過多などで腎の気を損傷させると、血が十分供給されなくなり、腰が重い、眩暈、耳鳴り、難聴、夜間頻尿、などの症状を呈する（腎気虚タイプ）。

気虚タイプの生理不順の人は、消化が良く、栄養バランスの取れた食事を心がけると良い。脾気虚タイプの人は、うるち米、粟米、小麦製品、大豆や大豆製品、牛乳、牛肉、鶏肉、烏骨鶏、山芋、ジャガイモ、里芋、南瓜、人参、イカ、貝柱、棗、桃、サクランボ、などが良い。また、薬膳茶としては、杜仲茶、ほうじ茶、ナツメ茶、などが良い。

一方、腎気虚タイプの人は、脾気虚タイプの人に良い食材に加えて、栗、胡桃、黒胡麻、クコの実、などを摂取すると良い。

6) 血熱タイプ

血熱とは、熱が体内にこもり易く、その熱が血の中に入る事で出血、発疹（ニキビや吹き出物）、熱症状などが引き起こされる。また、顔がほてる、口が乾燥する、尿が黄色い、乾燥した便、などの症状が随伴してみられる。

血熱タイプの生理不順においては、油っこい食べ物や辛い食べ物、肉類、アルコール類など、身体を暖める食材（大蒜、生姜、菰、葱、竜眼、羊肉、そら豆、落花生、唐辛子、胡椒、シナモン）はできるだけ避けて、体の熱を冷

ましてくれる食べ物を適度に摂取する事が良い。食材としては、胡瓜、トマト、冬瓜、苦瓜、レタス、茄子、牛蒡、大根、西瓜、梨、バナナ、柿、レモン、豆腐、豆乳、緑豆、などが良い。また、薬膳茶としては、緑茶、菊花茶、薄荷茶、などが良い。

7) 痰湿タイプ

脾気の不足により、食べた物が気・血・津液に変わらず、そのまま停留してしまった状態を“痰湿”と呼ぶ。

甘いものや味付けの濃いもの、油っこい食べ物は控える。水分代謝が悪く、水太りしやすいので水分の摂りすぎには注意する。

痰湿タイプの生理不順の人は、津液を排出してくれる働きのあるはと麦、トウモロコシ、小豆、黒豆、冬瓜、白菜、山芋、トマト、チンゲンサイ、鯉、鮒、西瓜、葡萄、メロン、などを摂ると良い。

【中国・上海事情⑦】

数年前に初めて家族と中国を訪れた時の事である。ホテルで食事をした時、フルーツコーナーにキウイフルーツの様に白い果肉にゴマの様な種が沢山有る果物をはじめて食べた。味はさっぱりしてほんのり甘く、種がツブツブしてまるで胡麻を食べている様な食感がしたのを思い出す（家族はあまり好きでなかった様だが・・・）。しかし、ぶつ切りにして皿に盛られた状態では果物の外観も想像できず、名前も知らないまま忘れていた。

最近上海の食材売り場で不思議なフルーツに出会った。ドラゴンフルーツ（英語:dragon fruit）、またはピタヤ（英語:pitaya）と呼ばれるフルーツで、サボテン科ヒモサボテン属のサンカクサボテンの果実である。メキシコなどの中南米や、ベトナム、マレーシア、台湾、中国南部などで生産されている。中国語名は 火龙果と呼ばれ、その形は一度見たら忘れられない。鮮やかなピンク色で、龍の形状をした不思議

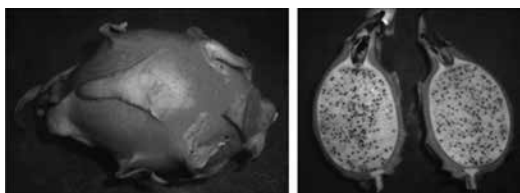


図1 火龙果

議な果物である。食べ方が判らないので店員に聞くと、皮を剥いて中の果肉を食べるとの事であった。そこで、勇気を出して一つ購入し、家に持ち帰った。ちなみに値段は500gで10元(約120円)ぐらいだった。早速まな板の上で半分に割ってみると、なんと以前ホテルで見た白い果肉に黒い斑点の様に種がびっしり詰まったあの果物との再会であった。

最近、中国の友人にこの話をしたところ、果肉が白いものと赤いものが有る様で、赤い果肉のものは高価なのだそう。まだ食していないので、赤い果肉の火龙果を食べるのが楽しみである。

火龙果の主な栄養成分は、カリウム、マグネシウム、葉酸などで、主な効能は高血圧予防、動脈硬化予防、脳梗塞予防、心筋梗塞予防、貧血予防、などが知られているようだ。

今回は女性の生理不順から美容にまで効果が有ると言われている味噌を題材にした“味噌蔵”を紹介する。

昭和の名人・八代目三笑亭可楽や十代目柳家小三治が得意としていた演目である。

【味噌蔵】

味噌問屋の吝嗇(しわい)屋ケチ兵衛。名前が示すとおりのドケチで、四十近い年齢なのに結婚しようとしない。「女房を持てば、飯は食らうわ、金を使うわ、子どもでもできた日には金がかかってしょうがない」と、いまだに独り身。心配した親類一同が、どうしても嫁を持たないなら、今後一切付き合いを断る、商売の取引もしないと脅したので、泣く泣く嫁を取った。しかし、赤ん坊ができるのが嫌さに、婚礼の晩から新妻を二階に上げっぱなし。ケチ兵衛は冬の最中だというのに、薄っぺらい掛け蒲団一枚で震えながら寝る始末。しかし、どうにも我慢がまんでなくなり、二階の嫁さんの元に温まりに通ったのが運の尽きで、とうとう子供ができてしまった。

振りかかった災難に頭を抱えたケチ兵衛、番頭に相談する。

番頭：実家で子どもを産んで貰えば旦那は一文もかかりやせん。生まれてから引き取れば、産婆代も産着代も浮くって寸法です。



図2 味噌蔵

味噌の効果：味噌は飛鳥時代(6世紀末)に中国から朝鮮半島を経て日本に伝わってきたとされている。日本の気候風土に合わせた日本独自の味噌造りの始まったのは平安時代の後期頃と言われており、その当時は高級品であった。江戸時代に入ると庶民も自家製の味噌造りをするようになり、飢饉の時も味噌の仕込みだけは欠かさなかったと言われている。「医者金を払うより味噌屋に払え」という江戸時代の諺がある程に、味噌には効能が知られていた。現在でも、味噌には癌予防効果、胃潰瘍の防止、放射線物質除去効果、消化促進、老化防止、整腸作用、コレステロール抑制作用が報告され、1986年に旧ソ連のチェルノブイリ原発事故で死の灰が北半球のほぼ全域を汚染した時に、味噌の放射線物質除去効果から大量に輸出された事は記憶に新しい。

そこで、番頭の提案でケチ兵衛は女房を実家に帰す。

そして、十月十日が経ち無事男子が生まれたとの知らせが届いたので、ケチ兵衛は小僧の定吉をお供に女房の里に出かける。出かけに、ケチ兵衛は小僧の定吉に言います。

ケチ兵衛：提灯を持っておいで。ただし、口ウソクはいらないよ。それに空の重箱も持っていくのだよ。

あちらの宴席で出たご馳走をこっそり詰めてくる算段だ。

ケチ兵衛は、店を出る前に番頭さんと呼んで、懇々と指示を出す。

ケチ兵衛：今晚は、泊まってくるつもりだ。火の始末だけはしっかり頼むよ。万一、御近所で火が出たら、味噌蔵だけは守ってくれよ。

旦那が出かけると、店の中から一挙に緊張感が消える。奉公人一同、このチャンスに飲み放題食い放題、日ごろのうっぷんを晴らそうと番頭に申し出る。

番頭が、勘定は帳簿をごまかすことに決め、寿司に刺身、鯛の塩焼きに酢の物と、ごちそうをあつらえる。最後に木の芽田楽を焼いた上で順

にどんどん届けさせることにし、酒も用意され、相撲甚句に磯節と、陽気などんちゃん騒ぎ。知らぬは、旦那ばかりなり・・・。

ところが、盛り上がりきった時に、外で戸を叩く者がいる。番頭が戸を開けると、今夜は女房の実家で泊まるはずの旦那であった。

一同、酔いもいっぺんに醒め、急いで膳を片づけたがもう遅い。

ケチ兵衛：この出費は給金からさっ引くから、生涯ただ働きを覚悟しろ。

と怒っているところへ戸をたたく音。

訪問者：ええ、焼けてまいりました。

さては火事だと驚き

ケチ兵衛：どこから焼けました。

訪問者：横町の豆腐屋から焼けてまいりました。

ケチ兵衛：よっぽど焼けましたか。

訪問者：二、三丁焼けました。これからどんどん焼けてきます。

これは火足が速いと、慌てて戸を開けると、ブーンと田楽味噌の匂い。

ケチ兵衛：いけねえ。味噌蔵に火が入った。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 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、兪向紅著 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

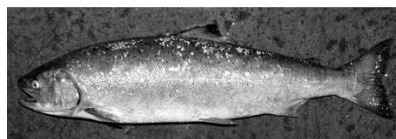
築地市場魚貝辞典（サクラマス）

春。なんとなく新しい出会いがあるようで、足取りが軽くなってくるような季節。築地界限でも、もうすぐ新歌舞伎座ができあがり、周辺では以前のような賑わいが戻ってくるのであろう。花壇に植えられた花々も明るさを際立たせている。花といえば桜の花。隅田川沿いには桜の名所もたくさんあるが、築地周辺にはそれほど桜の木は多くない。築地市場の入り口の一つ、かちどき門の向かいには1本の大きな桜が植えられているが、周囲に桜がない分、美しさを独り占めしているようにも見える。桜は春の代名詞。

今回は春の魚、サクラマスを紹介する。

一分類一

サクラマス进行分类学的に表すと、サケ目サケ科サケ属となる。背鰭と腹鰭が体の真ん中辺りにある魚のうち、脂鰭があって体が鱗に覆われ、鰓条骨（さいじょうこつ；



サクラマス

鰓の下部分にある蛇腹状のところ）の数が10から20とやや多い仲間。その内の、体が左右から押したように平たく、口内の上顎側には“小”字型に小さな歯が並び、頭部を除く背中には小さな黒点が散在する魚ということになる。サケ科に近いのは、ワカサギやシシャモが含まれるキュウリウオ科と考えられている。サケ科にはサケ属のほか、イワナ属やタイセイヨウサケ属など11の属が含まれる。サケ属にはサクラマスのほかサケ、ベニザケ、カラフトマス、マスノスケ、ギンザケ、ニジマスの7種が含まれている。どの種も水産上重要で、築地市場に入荷する。サクラマスには一生を川で過ごす河川残留型と、海へ下る降海型があり、河川残留型はヤマメと呼ばれる。また分布や生態が異なる亜種が知られていて、基本となるサクラマスのほか、サツキマス（河川残留型はアマゴ）とビワマスがある。

一形態一

サクラマスは、以前に紹介したサケとほとんど同じであるが、街中ではあまり見る機会がないと思うので、再度説明することにする。全体の形は、魚らしい形をしている。左右から押されたように、体の幅は狭い。眼は小さく、口は大きく、上顎の唇は下に向かってやや曲がっているため、少々いかつい顔に見える。上下の顎には小さいが鋭い円錐形の歯が並ぶ。胸鰭は体の下の方（腹側）にある。背鰭と腹鰭は体のほぼ中央にあり、背鰭の後（尾鰭の付け根）には小さくて柔かな脂鰭がある。尾鰭は上下の先端がやや丸みをおびる。鱗（うろこ）はやや小さく、はがれにくい。まれに体の背腹方向の高さが異常に高いものを見かけることがある。これは奇形ではなく、俗に「いたます」と呼ばれている。なぜこのような体型になるのか、よくわかっていない。

体色は、背中側は暗い灰色で、側面から腹は銀白色。背中から尾鰭に小さな黒点が多数ある。背鰭の先端付近は黒い。幼魚では体の側面に、大小の長い楕円形の黒色斑紋がある。降海型は大きく、体長 50cm を越える。河川残留型は大きくならず、体長 20cm ほどである。



頭部



背鰭



脂鰭と尾鰭



いたます

一生態一

九州から北海道、日本海、オホーツク海まで分布する。大きく2つの生活形態に分けられ、一生を河川や湖沼で過ごす河川残留型と、一度海へ下り再度河川に遡上してくる降海型がある。この生活系の違いは遺伝的に決まっているのではなく、同じ腹から生まれたもののうち、河川でじゅうぶん餌を取れるものは海へは下らず、餌が不足したもの

は海へ下ると考えられている。餌は河川では水生昆虫や小魚など、海では小魚やイカなどを食べている。一冬を海で過ごしたものは春になると河川に遡上し、夏の間は河川で過ごす。そして秋になると、上流へ移動してペアを作り川底に産卵する。このとき小さな河川残留型のオスは、大きな降海型のペアに割り込み、自分の精子をかける。ふつう産卵後は死亡するが、河川残留型の中には生き残るものもある。卵は冬の間に孵化し、春には稚魚が泳ぎ出す。成長の良いものは。その年の秋に産卵に加わり、成熟しなかったものは海へ下る。寿命は4年以上。

サクラマスには分布域や体色が異なる亜種がある。基本のサクラマスは、本州太平洋側では神奈川県西部にある酒匂川より東から北海道、日本海側では山口県から北、そして大分県と宮崎県を除く九州に分布する。サツキマス(陸封型はアマゴ)酒匂川より西の太平洋側から四国、大分県と宮崎県に分布し、サクラマスにはない小さい朱色の斑点がある。また琵琶湖にはビワマスが分布する。ビワマスは小さいうちは朱色の斑点があるが、成長すると消失する。しかし、養殖や放流が盛んに行われた結果、現在では本来の分布域意外でも見られるようになっている。



ビワマス

— 漁業 —

降海型は沿岸の表層を遊泳するので、魚の通り道に網を仕掛ける定置網、魚を網に絡めて捕る刺網、釣りなどで漁獲されている。レジャーとしての釣りの対象としても人気がある。ほかのサケ・マス類同様、種苗生産(親魚から採卵し、その卵から稚魚を育てる)と養殖が行われている。養殖ではコストなどの問題からか、大型のサクラマスまで育てることは少なく、小型のヤマメとして出荷するものが多いようである。サクラマスの分布域は日本列島が中心なので、輸入はないか、



小さいヤマメ



鮮魚で入荷

あっても少ないと思われる。

築地市場では、ほとんどが鮮魚で入荷する。定置網で漁獲されたものが並べられた箱をよく目にする。大きく鮮度の良いものは、1匹ずつ店の目立つところに置かれている。主に3月から5月に北海道や青森県、山形県など北日本から多く入荷する。ヤマメは夏場に入荷が多い。冬場から春先に多く、夏場はやや少ない。冷凍品や輸入品はないようである。



木箱で入荷した若いビワマス

一利用一

身はほかのサケ・マス類と同様に、白身であるがアスタキサンチンによってオレンジ色をしている。旨味もあって、さまざまな料理に向いている。ただし、日本海裂頭条虫（サナダムシ）の幼虫が寄生していることがあるので、生食をする場合は、2日以上冷凍する必要がある。塩焼き、味噌漬け、粕漬けなどの焼き物のほか、フライやムニエル、燻製などで賞味される。富山の名物である「ますの寿司」は、本来サクラマスを使っていたと思われるが、現在はサクラマス以外のサケ科の魚が使われることが多いようである。幼魚は甘露煮、ヤマメは塩焼きや甘露煮、燻製、干物もおいしい。

サクラマスの産卵期は9月から10月であるが、春は海から川へ上がる時期なので、海で餌をたくさん食べ栄養を蓄えてきた魚が沿岸でまとまって漁獲される春が旬といえるだろう。

一エピソード一

ふるくはマスといえばサクラマスのことであつた。というのも、江戸時代以前の日本人はサクラマス以外のマスを目にする機会がほとんどなかったものと思われる。その当時、日本人が見ることのできるサケ・マス類にはもう1種あり、そちらはサケと呼ばれた。現在の知識から見れば、サクラマスとサケは非常に近縁で、姿かたちも似ているのであるが、先人たちは春に川へ上り、秋の産卵期には赤くなる魚を「ます」、秋になってようやく川へ上ってくる黒と暗緑色、暗赤色が混ざる大きな魚を「さけ」と呼び区別した。明治以降、日本人が北海道より北の海へ進出するようになると、今まで見てきた「ます」と「さけ」以外にも、それらによく似ている魚がいることがわかってきた。これらの魚の名前を付けるとき、日本にいる似た魚の名前を取って、カラフトマスや

ベニザケ、ギンザケなどの名前ができたものと考えられる。サクラマスに関して言えば、ほかの種類は「～マス」と、マスの前に何らかの名称が付くので、そのままマスでよかっただろうが、やはり紛らわしいということなのか「桜」が付けられサクラマスと呼ばれるようになっていく。現在、サケも同じような理由からシロザケと呼ぶ人が増えている。

外国の魚で「～マス」と呼ばれる魚は、どうであろうか。辞書を見ると Trout の訳に「マス」が当てられていると思われる。英語の Trout は、もともとヨーロッパの魚で、ブラウントラウトのことである。英語の元であるイギリスも日本と事情は似ていて、川にすむ小型の魚を Trout、海に下って大きくなる魚を Salmon と呼んだ。だれが訳したのかはわからないが、日本語を当てるとき、日本のマスとサケをそのまま当てたのだらうと思われる。本来、ブラウントラウトである Trout にサクラマスであるマスを当てたのは、名案だったのか、迷案だったのか。

文 献

- 1) 井田 斉・河野 博・茂木正人 (監): 食材魚貝大百科 別巻2 サケ・マスのすべて, 平凡社 (2007)
- 2) 上野輝欄・坂本一男: 魚の分類の図鑑, 東海大学出版会 (1999)
- 3) 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)
- 4) 水島敏博・鳥澤 雅 (監): 新 北のさかなたち, 北海道新聞社 (2003)

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

ニューフードインダストリー 第55巻 第4号

印 刷 平成 25 年 3 月 25 日

発 行 平成 25 年 4 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