

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2013 Vol.55 No.8

8

論 説

- ポリアミンによるアンチエイジング – 遺伝子修飾作用 –
- 納豆が有するt-PA産生能
— 心筋梗塞, 脳血栓の治療薬および中枢神経系における可能性 —
- 米タンパク質に適したプロテオーム解析技術の開発
- 二枚貝, 特にシジミの機能性因子に関する研究
- 愛媛県産六条大麦「はだか麦」の利用拡大を目指した地域連携 (その2)
- 食品科学研究におけるイメージング技術
- ベジタリアン栄養学
歴史の潮流と科学的評価 (第2節 ベジタリアン食と慢性疾患予防)

連 載

- 匍匐性權脚類による二枚貝飼育水槽の汚れ除去
- “地域密着でキラリと光る企業” 納豆一筋『あづま食品株式会社』
- 築地市場魚貝辞典 (シロギス)

エッセイ

- 伝える心・伝えられたもの – 諸味蔵の神さま –



論 説

- ポリアミンによるアンチエイジング – 遺伝子修飾作用 –
..... 早田 邦康 1

- 納豆が有する t-PA 産生能
– 心筋梗塞, 脳血栓の治療薬および中枢神経系における可能性 –
..... 須見 洋行, 内藤 佐和, 矢田貝 智恵子,
大杉 忠則, 柳澤 泰任, 今井 雅敏, 丸山 眞杉 11

- 米タンパク質に適したプロテオーム解析技術の開発
..... 佐生 愛, 重光 隆成, 増村 威宏 16

- 二枚貝, 特にシジミの機能性因子に関する研究
..... 千々松 武司, 山田 耕史, 小田 裕昭, 望月 聡 23

- 愛媛県産六条大麦「はだか麦」の
利用拡大を目指した地域連携 (その2)
..... 渡部 保夫 32

- 食品科学研究におけるイメージング技術
..... 秋山 美展 39

- ベジタリアン栄養学
歴史の潮流と科学的評価 (第2節 ベジタリアン食と慢性疾患予防)
..... ジョアン・サバテ (Joan Sabate), 訳: 山路 明俊 48

連 載

- 匍匐性權脚類による二枚貝飼育水槽の汚れ除去
..... 酒本 秀一, 大橋 勝彦, 仙石 義昭 63

- “地域密着でキラリと光る企業”
納豆一筋『あづま食品株式会社』
..... 田形 暎作 75

- 築地市場魚貝辞典 (シロギス)
..... 山田 和彦 83

エッセイ

- 伝える心・伝えられたもの — 諸味蔵の神さま —
..... 宮尾 茂雄 87

お知らせ：薬膳の知恵は編集の都合により休載させていただきます。来月号よりまた連載いたします。

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料

コクベース

セラチン&小麦グルテン

酵素分解調味料

エンザップ

new 発酵調味料

D&M

ディアンドエム

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料

コクベース

ラクティックイーストエキス

乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳酵母エキスです。

DM **大日本明治製糖株式会社**

食品事業部

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

ポリアミンによるアンチエイジング — 遺伝子修飾作用 —

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 : ポリアミン・アンチエイジング・遺伝子修飾・メチル化抑制・日本食・地中海食・マウス

要 旨

健康長寿食である日本食や地中海食はポリアミン（スペルミンおよびスペルミジン）が豊富であり、ポリアミン濃度の高い餌でマウスを飼育すると老化が抑制される。この効果は、ポリアミンが免疫細胞の Lymphocyte Function-associate Antigen 1 (LFA-1) というタンパクを選択的に減少させる事によることが原因の一つと考えてきた。ポリアミンによる LFA-1 抑制の機序と高ポリアミン状態が遺伝子のメチル化に及ぼす影響を検討したので報告する。Jurkat 細胞をポリアミン合成阻害剤である alpha-d,l- difluoromethylornithine hydrochloride (DFMO) (3 mM) とともに培養すると、細胞内ポリアミン濃度が減少し、メチル化を促進する酵素である DNA methyltransferase (Dnmt) の活性が抑制され、LFA-1 プロモーター領域（遺伝子情報の開始領域）の脱メチル化が進行した。DFMO でポリアミン合成を阻害した細胞に 500 μM のスペルミンを加えると、細胞内ポリアミン濃度が上昇し、Dnmt が活性化され、LFA-1 プロモーター領域のメチル化が進行した。一方、LFA-1 の発現に関連する細胞内シグナル (Ras-proximate-1 = Rap1) に変化は生じなかった。遺伝子のメチル化は遺伝子発現抑制と関連することから、ポリアミンによる LFA-1 発現抑制の機序としては、プロモーター領域のメチル化が考えられた。さらに、遺伝子全体のメチル化におよぼすポリアミンの影響をマイクロアレイで検討したところ、ポリアミン欠乏の細胞では脱メチル化およびメチル化ともに進行したが、スペルミン添加によって脱メチル化/メチル化の進行が抑制された。また、高齢マウス (BALB/c, 88 週齢) の腎臓のメチル化の状態を検討したところ、低ポリアミン群の高齢マウスでは若年マウスと比較すると脱メチル化/メチル化が著明に進行していた。しかし、高ポリアミン群のマウスでは脱メチル化/メチル化が抑制され、メチル化の状態は若年マウスと類似していた。加齢とともにポリアミン合成能が低下し、Dnmt 活性が低下し、LFA-1 プロモーター領域の脱メチル化が増強していることが報告されている。また、加齢とともに進行する異常メチル化と呼ばれる脱メチル化とメチル化の進行は様々な生活習慣病の誘発や老化そのものの原因と考えられている。ポリアミンによる老化抑制には、加齢に伴って進行する遺伝子の異常メチル化の抑制が関与していることが推測された。

はじめに

多くの生活習慣病の発症や進行、さらには老化の進行に慢性炎症が関与していることが

明らかにされ、炎症と生活習慣病や老化の関連を密接に表す inflamm-aging という造語も作られた¹⁻³⁾。炎症とは、生体に発生した何らか

連絡先 : 〒 330-8503 埼玉県さいたま市大宮区天沼町 1-847

自治医科大学大学院 循環器病臨床医学研究所

E-mail : soda@jichi.ac.jp Tel : 048-647-2111 Fax : 048-648-5188

の有害な刺激に対して白血球などの免疫機能が活性化され、そのために生じた生体の症候をさす。免疫細胞の機能は加齢とともに変化することが知られており、immuno-senescenceと呼ばれている。一般的に、高齢者の免疫細胞は活性化されやすく、そのために炎症を誘発しやすい状態になっていることが指摘されている^{4,5)}。

これまで、我々は、食物中に含まれるポリアミン（スペルミンとスペルミジン）という物質が免疫細胞の Lymphocyte Function-associated Antigen 1 (LFA-1) というタンパクの量を減少させることを報告した^{6,7)}。LFA-1 は免疫細胞が機能を発揮するためには不可欠なタンパクであるが、一方で加齢に伴って増加することが知られている。細胞の表面には LFA-1 のようなタンパクが数多く存在し、それぞれ細胞の機能に重要な役割を果たしている。興味深いのは、ポリアミンは LFA-1 以外の多くの細胞膜表面のタンパク（細胞膜分化抗原）の発現にはほとんど影響をおよぼさなかったことである。一方、ポリアミン濃度の上昇した免疫細胞では、Phytohemagglutinin (PHA) や ConcanavalinA (ConA) 刺激に対する幼若化反応が亢進する^{6,7)}。幼若化反応とは、マイトジェンと呼ばれる物質に対するリンパ球の反応の能力を検討する検査である。LFA-1 の増加と PHA や ConA に対する反応の低下は加齢とともに進行することがしばしば指摘されており^{3,8-11)}、ポリアミンは、いわば高齢者の免疫細胞の特徴を若年者の免疫細胞の特徴に変化させると言ってもよい⁷⁾。さらに、他の研究者からはポリアミンが細胞の寿命を延長させることが報告されているが¹²⁾、我々も、ヒトから採取した末梢血中の免疫細胞の Natural killer (NK) 活性の変化を調べたところ、培養によって急速に低下する NK 活性がポリアミンによって長時間にわたって維持される事を観察している^{7,13)}。さらに、ポリアミンは LFA-1 の抑制によって炎症が誘発されにくい体内環境に

するだけでなく、炎症性サイトカインの産生を抑制し、抗酸化作用を発揮し、放射線などの有害な刺激から遺伝子を保護する作用などが報告されている^{6,14-18)}。

ポリアミンによるこれらの作用は細胞や組織を外的な刺激から保護する作用である。そこで、抗酸化作用を有するポリフェノールなどにも同様の生物活性のある事が指摘され、これらの活性が老化や生活習慣病の発症や進行を抑制するのではないかと考えられていた。しかし、ポリフェノールなどの食成分をマウスに投与しても、老化抑制や寿命延長効果が観察されないことが報告されている^{19,20)}。ところが、高ポリアミン餌（大豆の2～3倍程度のポリアミン濃度）はマウスの老化の進行を抑制し、寿命を延長する^{21,22)}。当初ポリアミンによるアンチエイジング効果は、上記の生物活性に加えて LFA-1 の発現や機能を抑制する事による慢性炎症抑制作用が重要ではないかと考えていた。そこで、今回ポリアミンによる LFA-1 抑制機序を検討したので報告する。さらに、その研究の過程で見いだした遺伝子修飾（遺伝子のメチル化）におよぼす影響を紹介したい。

1. 遺伝子修飾とは

遺伝子情報は、4つの塩基（アデニン（A）、グアニン（G）、チミン（T）、シトシン（C））の配列の組み合わせで構成されている。遺伝子に記録されている遺伝情報は、DNA → RNA への転写→タンパク質合成→形質発現の順に伝達される。この過程を遺伝子発現（もしくは単に発現）というが、同じ遺伝子からは同じタンパクが合成される事になる。0と1の配列によるコンピュータのデジタル情報と同様に、遺伝子は4つの信号の組み合わせによる、より複雑なデジタル情報ということもできる。

同じ遺伝子情報を有する一卵性双生児は、極

めてよく似ており、外見も区別がつかない。しかし、生まれたばかりの頃にはそっくりな一卵性双生児も、成長するにつれ徐々に区別がつくようになる。これは、外的な要因によって遺伝情報の読み取りに差が生まれることによって生じる変化と理解されている。環境や職業が人を作るなどと言われてきたが、同じ遺伝子を有していても周囲の環境によって徐々に遺伝子発現に変化が生じる例として認識されている。つまり、周囲の環境に対応して遺伝子発現を制御する機構があり、これをエピジェネティクス（遺伝子修飾）と呼んでいる。

この遺伝子修飾の一つにメチル化という機構がある。私たちに比較的身近で科学的に解明されている例としては、ミツバチが挙げられる。ミツバチは多くの働き蜂と1匹の女王蜂の集団で生活する。女王蜂も働き蜂も同じ卵から孵った蜂であるが、女王蜂は働き蜂の2倍も体が大きく、たくさん卵を生む事ができる。言い換えれば、働き蜂は女王蜂と同じ遺伝子を持ちながら、小さな体で卵を産む事はできない。ご存知の様に、女王蜂はローヤルゼリーだけで育てられるが、ローヤルゼリーのみで育てられた蜂の遺伝子のメチル化の状態は、ハチミツで育てられた蜂とは異なり、このことが女王蜂と働き蜂の違いを生み出していると考えられている²³⁾。もちろん、これは蜂においてローヤルゼリーが引き起こす作用であり、ローヤルゼリーがヒトにこのような作用を誘発するというわけではない。しかし、経口摂取によって遺伝子情報の伝達が影響される事を明確にしたということは極めて重要なことである。

メチル化は、アデニン、グアニン、チミン、シトシンで構成される遺伝子（DNA）のなかのシトシンだけに生じる。シトシンはメチル基を受け取りメチル化することによってメチルシトシンになる。この事が遺伝情報の伝達にどの

プロモーター領域

GTACGCGCGCGCGCGGTAGCATGCGTACTGCGTAAT

CGの繰り返し配列

メチル基（●）がついてメチル化された遺伝子

GTAC●G●GCG●G●GCG●GTAGCATGCGTACTGCGTAAT

CGの繰り返し配列の認識が困難になる

図1 遺伝子のメチル化

体の設計図である遺伝子（DNA）の情報はRNAに転写（=DNAからRNAを合成する段階のこと）されるが、遺伝子情報の存在する上流領域の内部にはシトシン（C）とグアニン（G）の繰り返し配列を多く持つ領域が存在し、プロモーター領域と呼ばれる。シトシン（C）がメチル化を受けると、転写因子はその領域が転写開始領域であることを認識しづらくなり、転写が抑制され、タンパクが合成されにくくなる。

ように関係しているかということ、図1を参考にさせていただきたい。遺伝子翻訳開始領域、すなわちこれから下流の領域に遺伝子情報が記録されていることを示す領域にはシトシンとグアニンの繰り返し配列を多く有する領域が存在し、プロモーター領域と呼ばれる。遺伝情報の読み取りはこの部位を認識する事から始まる。しかし、この部分のシトシンがメチル化されメチルシトシンになると、遺伝情報の読み取りを行う際に、この部分が遺伝子の翻訳開始領域ということが認識されにくくなり、転写（DNAからRNAへの情報の読み込み）が抑制される。その結果、遺伝情報は存在しても、その情報が持つタンパクの合成は抑制されやすくなる。反対に脱メチル化によって、シトシンとグアニンの繰り返し配列が明瞭であれば、より転写を受けやすい状態になり、結果としてタンパクの合成が活発になりやすい。すなわち、遺伝情報は本来デジタルであるが、情報の伝達にメチル化というアナログ形式を取り入れることによって、遺伝子発現を調節している。

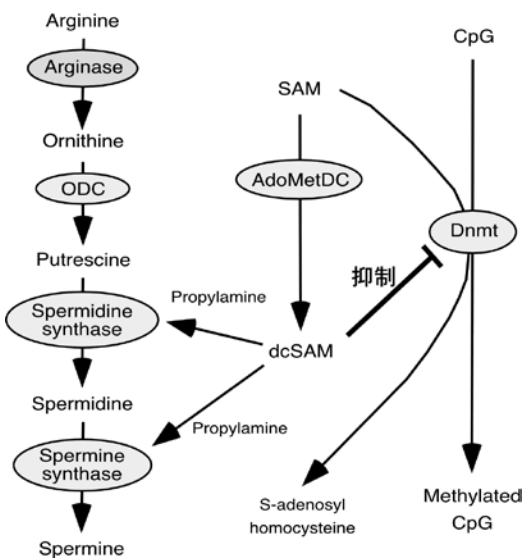
2. ポリアミンとメチル化

ポリアミンの代謝と遺伝子のメチル化には密接な関係がある。図2にポリアミン合成の経路とメチル化の関係を示す。アルギニンはアルギナーゼの作用を受けてオルニチンになる。オルニチンはオルニチンデカルボキシラーゼ (Ornithine Decarboxylase : ODC) の作用を受けてプトレスシンに変換される。プトレスシンは、スベルミジン/スベルミン合成酵素の作用によってスベルミジン、スベルミンになる。その際、脱炭酸アデノシルメチオニン (Decarboxylated S-adenosylmethionine : dcSAM) からプロピルアミン (propylamine) が供給される。dcSAM はアデノシルメチオニン (Adenosylmethionine decarboxylase : AdoMetDC) の作用によって、生体内のメチル基のドナー (供給源) である S-adenosylmethionin (SAM) から合成される。遺伝子のメチル化には DNA-methyltransferase (Dnmt) が関与する。Dnmt の作用によって SAM からメチル基がシトシンに

付加され、メチルシトシンに変換される。メチル基のドナーである SAM の増加は Dnmt の活性化を促すが、dcSAM の増加は Dnmt の活性を抑制しメチル化を抑制するように作用する^{24, 25)}。すなわち、細胞からのポリアミンの供給によって細胞内ポリアミン濃度が変化すると、酵素活性などが影響を受けて、メチル化の状態に影響をあたえるのである。

3. ポリアミンによる LFA-1 プロモーター領域 (ITGAL) のメチル化

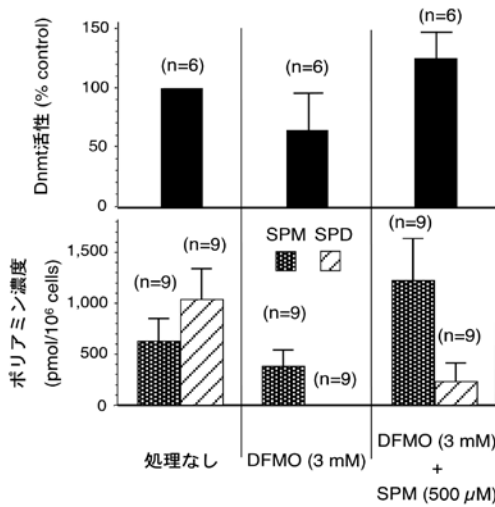
ポリアミンによる LFA-1 の発現機序の検討は、ヒトのリンパ球系の培養細胞である Jurkat 細胞を用いて行った。ポリアミン合成酵素である ODC の活性を 3mM の alpha-d,l-difluoromethylornithine hydrochloride (DFMO) で抑制すると、細胞内のポリアミン濃度は著明に低下した(図3)。ODCの活性が抑制されると、dcSAM濃度が相対的に上昇することが報告されている²⁵⁻²⁷⁾。前述したように dcSAM の増加によって Dnmt の活性は抑制されるが^{24, 25)}、実際に Dnmt の活性を EpiQuik Nuclear Extraction



ポリアミン (spermine と spermidine) はアルギニン (arginine) から合成される。合成の過程で、脱炭酸 s-アデノシルメチオニン (dc-SAM) から propylamine を供与される。アデノシルメチオニン脱炭酸酵素 (AdoMetDC) は S-アデノシルメチオニン (SAM) を dcSAM に変換する。SAM は体内のメチル基のドナーであり、dcSAM は DNA メチルトランスフェラーゼ (Dnmt) を抑制する様に作用する。Dnmt は遺伝子のシトシンにメチル基を供与し、メチル化 (メチルシトシン) させる。

ODC = Ornithine decarboxylase
SAM = S-adenosylmethionine
dcSAM = Decarboxylated S-adenosylmethionine
AdoMetDC = Adenosylmethionine decarboxylase
Dnmt = DNA-methyltransferase

図2 ポリアミン代謝とメチル化の関係



通常培養した Jurkat 細胞のスベルミン濃度は 629.6 ± 222.1 pmol/10⁶ 個でスベルミジン濃度は 1035.7 ± 305.2 pmol/10⁶ 個であった。DFMO とともに培養した Jurkat 細胞ではスベルミジン (SPD) 濃度はほとんど測定できない程度まで低下し、スベルミン (SPM) 濃度も低下した (310.6 ± 91.3 pmol/10⁶ 個) ($p=0.038$)。スベルミンを添加するとスベルミン濃度の上昇が認められ (1224.9 ± 414.1 pmol/10⁶ 個)、処理をしない細胞より有為の差を認めた ($p=0.001$)。また、スベルミジンも軽度上昇した。DFMO で ODC の活性を阻害した細胞では、通常培養の細胞より Dnmt 活性が低下したが ($p=0.029$)、スベルミンを添加 (DFMO+SPM) すると Dnmt の活性は上昇した ($p=0.001$)。

Dnmt = DNA-methyltransferase
 SPM = permine
 SPD = Spermidine
 DFMO = alpha-d,l-difluoromethylornithine hydrochloride
 MGBG = Methylglyoxal bis-guanyldrazone

図3 ポリアミン濃度と Dnmt 活性

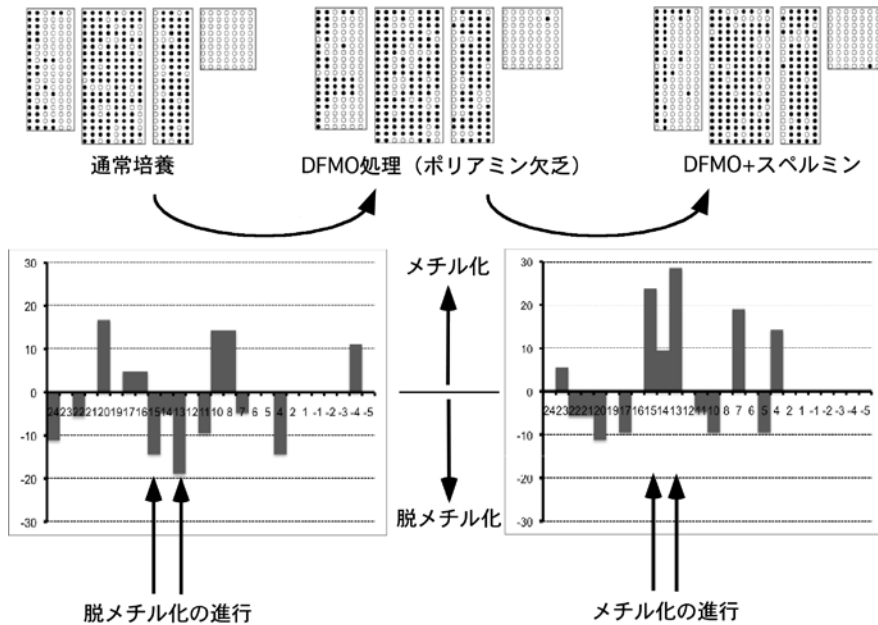


図4 LFA-1 プロモーター領域メチル化の変化

上段はプロモーター領域のメチル化の状態を示しており、黒丸はメチル化、白丸は脱メチル化を示す。列の数は検討した細胞の数を示す。

下段は、通常培養した細胞と比較した DFMO 処理してポリアミン濃度の低下した細胞のメチル化の変化 (下段左) を示す。棒グラフのプラスはメチル化の進行を示し、マイナスは脱メチル化の進行を示す。下段右は DFMO 処理の細胞にスベルミンを加えた際の変化を示す。LFA-1 発現と密接な関係が指摘されている領域 (矢印) において、DFMO 処理でポリアミン濃度が減少した細胞では脱メチル化が進行し、スベルミンを加えてポリアミン濃度が上昇した細胞ではメチル化が進行した。

DFMO = alpha-d,l-difluoromethylornithine hydrochloride

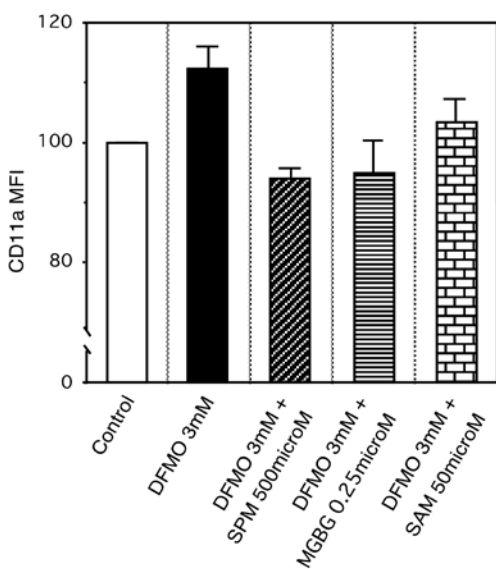
Kit I and EpiQuik DNA Methyltransferase Activity/Inhibition Assay Kits (Epigentek Group Inc.) を用いて測定すると、DFMO によってポリアミン濃度の低下した Jurkat 細胞では Dnmt の活性が抑制されていた(図3)。一方、LFA-1 のプロモーター領域 (ITGAL) のメチル化の状態をバイサルファイトシーケンス法で検討したところ(詳細は文献を参考)²⁸⁾、1221 bp と 1157 bp の部位で脱メチル化が進行していた(図4)。また、同時にこの細胞では LFA-1 のタンパク量が増加していた。

DFMO で ODC 活性を抑制した細胞にスベルミンを添加すると、ポリアミン濃度が上昇した。ポリアミン濃度が上昇すると、ネガティブフィードバック機構によって AdoMetDC 活性が抑制される。AdoMetDC の抑制によって、dcSAM が減少し、相対的に SAM が増加することになる^{25, 27, 29)}。SAM の増加と dcSAM の減少は Dnmt の活性化を生じ、メチル化を促進するが^{30, 31)}、実際に DFMO でポリアミン合成を阻害した Jurkat 細胞にポリアミン (スベルミン 500 μM) を加えると、Dnmt が活性化された

(図3)。また、DFMO 処理によって脱メチル化した LFA-1 プロモーター領域は、スベルミン添加によってメチル化が進行することがわかった(図4)。そして、スベルミン添加によって LFA-1 のタンパク量は減少した。

さらに、ポリアミン代謝とメチル化の関係を確認するために、ポリアミン代謝に修飾を加えて LFA-1 発現の状態を調べた。AdoMetDC の活性を Methylglyoxal bis-guanylhydrazone (MGBG) で抑制すると、SAM から dcSAM への変換が抑制され、結果として SAM の増加と dcSAM の減少が生じる(図2)。これにより、Dnmt の活性が亢進し、LFA-1 のプロモーター領域のメチル化が増強され、LFA-1 発現が抑制されることが推測される。実際に AdoMetDC の活性を 0.25 μM の MGBG で抑制すると、LFA-1 のタンパク量は減少することが確認できた(図5)。反対に、メチルドナーである SAM (50 μM) を加え続けると LFA-1 のタンパク量は DFMO で ODC 活性を阻害した細胞より低下する事が推測されたが(図2)、実際に SAM の投与によって LFA-1 のタンパク量は減少した(図5)。

一方、Rap1 (Ras-proximate-1 もしくは Ras-related protein 1) と呼ばれるタンパクは LFA-1 などの細胞接着因子と呼ばれるタンパクの発現に関与している。このタンパクの活性を Active



Jurkat 細胞に様々な処理を加えて LFA-1 (CD11a) の発現におよぼす影響を検討した。RPMI1640+10% ヒト血清培養液を用いて下段に記載している条件で 72 時間 Jurkat 細胞を培養して CD11a の発現量をフローサイトメトリーで検討した。

Control = 通常培養
DFMO = alpha-d,l- difluoromethylornithine hydrochloride
SPM = Spermine
MGBG = Methylglyoxal bis-guanylhydrazone
SAM = S-adenosylmethionine

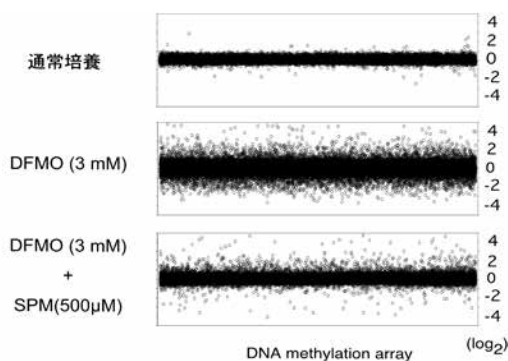
図5 ポリアミン代謝と LFA-1 発現

Rap1 Pull-Down and Detection Kits (Thermo Fisher Scientific Inc.) によって測定したところ、その活性はポリアミン濃度の変化によって影響を受けなかった²⁸⁾。また、ポリアミンは LFA-1 の発現を抑制したが、Rap1 によって発現が影響をうける CD49d や CD49e のタンパク量を変化させなかった²⁸⁾。すなわち、ポリアミンによる LFA-1 の発現抑制には、細胞内シグナルである Rap1 はほとんど関与していなかった。これらの事から、ポリアミンによる LFA-1 抑制は遺伝子のメチル化が関与している事が推測された。

ポリアミンの濃度変化により影響をうけた LFA-1 のプロモーター領域 (1221 bp と 1157 bp) のメチル化の変化は、加齢に伴う LFA-1 発現亢進に伴う脱メチル化の進行が認められる部位とほぼ同一である³²⁾。加齢に伴ってポリアミン合成能が低下することを考慮に入れると、加齢に伴う LFA-1 の発現亢進にポリアミン代謝が関与していることが推測された。

4. ポリアミンによる遺伝子全体のメチル化への影響

一般的に、いったん付けられたゲノム上のメチル化模様は安定的に次世代の細胞に受け



継がれるとされているが³³⁾、メチル化修飾は可逆的に変化する部位のあることも報告されている^{34, 25)}。実際に、LFA-1 のプロモーター領域は可逆的に変化する部位の一つであることがわかった。そこで、LFA-1 のプロモーター領域に作用したポリアミンは、他の遺伝子のメチル化に対してどのように作用するのかを検討した。詳細は、論文を参考にさせていただきたいが、図 6 は何も処理しない Jurkat 細胞と比較した遺伝子のメチル化の状態をみたものである。各図のプラスの数値は脱メチル化が進行していることを、マイナスの数値はメチル化が進行している事を示す。

通常培養した細胞、すなわち何も処理しない Jurkat 細胞では原理的にはプロットが 0 のライン上に一直線に並ぶはずであるが、実際には図 6 の上段の様にすこし幅を持ったプロットが形成される。この何も処理していない Jurkat 細胞と比較すると、DFMO (3mM) でポリアミン合成を阻害した細胞の遺伝子のメチル化の状態は、プロットの幅が広くなり脱メチル化およびメチル化ともに進行していることがわかる。一方、DFMO でポリアミン合成を阻害した Jurkat 細胞にスベルミン (500 µM) を加えた細胞では、

遺伝子のメチル化に対するポリアミンの直接的な作用を検討するために、培養細胞 (Jurkat 細胞) を用いて検討した。全遺伝子のフラグメントのメチル化の状態をメチル化マイクロアレイで検討した。図中の小さな○が 0 より上に行くほどコントロール (通常培養) と比較して脱メチル化が進行していることを示し、下に行くほどメチル化が進行していることを示している。細胞を ODC 阻害剤である alpha-d,l-difluoromethylornithine hydrochloride (DFMO) とともに 72 時間培養して Dnmt 活性が低下した細胞では、脱メチル化およびメチル化が進行した。DFMO でポリアミン合成を阻害した細胞にスベルミンを添加して Dnmt の活性が増強した細胞では、遺伝子のメチル化の状態が通常培養した細胞と同等であった。

DFMO = alpha-d,l-difluoromethylornithine hydrochloride
SPM = Spermine

図 6 ポリアミンによるメチル化の影響

プロットの幅は狭くなり、DFMOによって生じた脱メチル化およびメチル化が抑制されたことがわかる (図6)³⁵⁾。

5. マウスの遺伝子におよぼす経口ポリアミンの影響

このように、スベルミンの細胞外からの供給は、Dnmtを活性化し、LFA-1プロモーター領域のメチル化を促進し、ポリアミン不足によって生じた遺伝子の脱メチル化/メチル化の亢進(異常メチル化)を抑制することがわかった。そこで、マウスの遺伝子のメチル化におよぼすポリアミンの影響を検討する目的で、低もしくは高ポリアミン濃度の餌で飼育した高齢マウス(Bulb/cオス, 88週齢)と若年マウス(20週齢)の遺伝子のメチル化の状態を比較した。以前の検討で、加齢に伴ってもっとも著明な変化が生じるのは腎臓であったので、腎臓を用いた。図7に示すように、若年マウスと比較すると、低ポリアミン餌で飼育したマウスの遺伝子では脱メチル化およびメチル化が進行(異常メチル化)していた。このような異常メチル化は通常加齢とともに進行し^{26-34, 36-38)}、発癌を含めた多くの生活習慣病の原因と考えられている。例えば、癌遺伝子が脱メチル化をうけて遺伝子の活性化が生じ、癌抑制遺伝子がメチル化をうけて遺伝子発現が抑制されると、発癌が促進される事

なる。

ポリアミンによる免疫細胞への作用を判りやすく説明すると、高齢者の免疫細胞の状態を若年者の免疫細胞の状態にすると言う事が出来る。今回の検討では、遺伝子修飾においても同様のことが生じ、スベルミン(ポリアミン)は高齢マウスの遺伝子のメチル化の状態を若いマウスのメチル化の状態にする作用があることがわかった³⁵⁾。

加齢は、ポリアミン合成酵素(ODC)の活性低下^{12, 40)}、Dnmtの活性低下⁴¹⁻⁴³⁾、脱メチル化/メチル化の進行³⁷⁻³⁹⁾を伴っていることが報告されている。今回の検討結果を考慮すると、加齢に伴う遺伝子のメチル化の変化にはポリアミンの代謝も関与していると思われた。また、炎症が老化や癌を含めた生活習慣病の発症に関与し、炎症が異常メチル化を誘発する事を考慮に入れると、高ポリアミンによる老化防止および長寿には遺伝子に対するポリアミンの直接的な異常メチル化抑制作用と、LFA-1発現抑制による炎症抑制を介した異常メチル化の抑制が関与している可能性がある。

おわりに

我々は、健康長寿食である日本食と地中海食が高ポリアミン食であることを報告している⁴⁴⁻⁴⁶⁾。そして、長期間のポリアミン摂取の増加によってヒトとマウスで体内ポリアミン濃度が上昇する事を確認している^{21, 47)}。ポリ

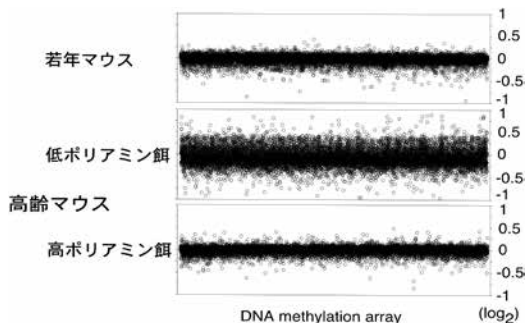


図7 高ポリアミン餌によるマウス腎臓遺伝子のメチル化への影響

高ポリアミン餌がマウスの遺伝子に及ぼす影響を示す。若年マウスの遺伝子と比較したメチル化の状態をメチル化マイクロアレイ検討した。低濃度のポリアミン餌で飼育した高齢マウスの遺伝子の脱メチル化およびメチル化の程度は大きかった。しかし、高ポリアミン餌で飼育したマウスの遺伝子の脱メチル化およびメチル化の程度は小さく、若年マウスの状態と類似していた。

アミンが抑制する遺伝子の異常メチル化は、発癌とも密接に関連している。興味深いのは、高ポリアミン食である日本食や地中海食の地域では乳癌や大腸癌の発症率が低いことが指摘されていることである。ポリアミンが遺伝

子の異常メチル化を抑制するという今回の検討結果は、ポリアミン摂取が発癌抑制に寄与する可能性がある事を示唆するものであり、次回はこの事についての検討結果を報告したい。

..... 参考文献

- 1) Salvioli S, Monti D, Lanzarini C, *et.al.*: Immune system, cell senescence, aging and longevity - Inflamm-aging reappraised. *Curr Pharm Des* **1**:1675-9, 2013.
- 2) Boren E, Gershwin ME.: Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. *Autoimmun Rev* **3**:401-6, 2004.
- 3) Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, *et.al.*: Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci* **908**:244-54, 2000.
- 4) Collerton J, Martin-Ruiz C, Davies K, *et.al.*: Frailty and the role of inflammation, immunosenescence and cellular ageing in the very old: cross-sectional findings from the Newcastle 85+ Study. *Mech Ageing Dev* **133**:456-66, 2012.
- 5) Solana R, Tarazona R, Gayoso I, Lesur O, Dupuis G, Fulop T.: Innate immunosenescence: effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans. *Semin Immunol* **24**:331-41, 2012.
- 6) Soda K, Kano Y, Nakamura T, Kasono K, Kawakami M, Konishi F.: Spermine, a natural polyamine, suppresses LFA-1 expression on human lymphocyte. *J Immunol* **175**:237-45, 2005.
- 7) 早田邦康. ポリアミンによるアンチエイジング (その1) . *New Food Industry* **51**:55-64, 2009.
- 8) Powers DC, Morley JE, Flood JF.: Age-related changes in LFA-1 expression, cell adhesion, and PHA-induced proliferation by lymphocytes from senescence-accelerated mouse (SAM)-P/8 and SAM-R/1 substrains. *Cell Immunol* **141**:444-56, 1992.
- 9) Chiricolo M, Morini MC, Mancini R, Beltrandi E, Belletti D, Conte R.: Cell adhesion molecules CD11a and CD18 in blood monocytes in old age and the consequences for immunological dysfunction. Preliminary results. *Gerontology* **41**:227-34, 1995.
- 10) Pisciotta AV, Westring DW, DePrey C, Walsh B.: Mitogenic effect of phytohaemagglutinin at different ages. *Nature* **215**:193-4, 1967.
- 11) Gillis S, Kozak R, Durante M, Weksler ME.: Immunological studies of aging. Decreased production of and response to T cell growth factor by lymphocytes from aged humans. *J Clin Invest* **67**:937-42, 1981.
- 12) Eisenberg T, Knauer H, Schauer A, *et.al.*: Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. *Nat Cell Biol* **11**:1305-14, 2009.
- 13) 早田邦康. 癌病態と栄養成分—ポリアミン, 脂肪酸, ポリフェノールについて—. *静脈経腸栄養* **26**:9-18, 2011.
- 14) Zhang M, Caragine T, Wang H, *et.al.*: Spermine inhibits proinflammatory cytokine synthesis in human mononuclear cells: a counterregulatory mechanism that restrains the immune response. *J Exp Med* **185**:1759-68, 1997.
- 15) Ha HC, Sirisoma NS, Kuppusamy P, Zweier JL, Woster PM, Casero RA, Jr.: The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**:11140-5, 1998.
- 16) Fujisawa S, Kadoma Y.: Kinetic evaluation of polyamines as radical scavengers. *Anticancer Res* **25**:965-9, 2005.
- 17) Mackintosh CA, Pegg AE.: Effect of spermine synthase deficiency on polyamine biosynthesis and content in mice and embryonic fibroblasts, and the sensitivity of fibroblasts to 1,3-bis-(2-chloroethyl)-N-nitrosourea. *Biochem J* **351 Pt 2**:439-47, 2000.
- 18) Newton GL, Aguilera JA, Ward JF, Fahey RC.: Polyamine-induced compaction and aggregation of DNA--a major factor in radioprotection of chromatin under physiological conditions. *Radiat Res* **145**:776-80, 1996.
- 19) 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, 2013.
- 20) 早田邦康. 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—. *New Food Industry*. 55:14-20, 2013.
- 21) 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.

- 22) 早田邦康. ポリアミンによるアンチエイジング (その2). *New Food Industry* **52**:66-73, 2010.
- 23) Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R.: Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science* **319**:1827-30, 2008.
- 24) Tsuji T, Usui S, Aida T, *et.al.*: Induction of epithelial differentiation and DNA demethylation in hamster malignant oral keratinocyte by ornithine decarboxylase antizyme. *Oncogene* **20**:24-33, 2001.
- 25) Yamamoto D, Shima K, Matsuo K, *et.al.*: Ornithine decarboxylase antizyme induces hypomethylation of genome DNA and histone H3 lysine 9 dimethylation (H3K9me2) in human oral cancer cell line. *PLoS One* **5**:e12554, 2010.
- 26) Frostesjo L, Holm I, Grahn B, Page AW, Bestor TH, Heby O.: Interference with DNA methyltransferase activity and genome methylation during F9 teratocarcinoma stem cell differentiation induced by polyamine depletion. *J Biol Chem* **272**:4359-66, 1997.
- 27) Pegg AE, Wang X, Schwartz CE, McCloskey DE.: Spermine synthase activity affects the content of decarboxylated S-adenosylmethionine. *Biochem J* **433**:139-44, 2011.
- 28) Kano Y, Soda K, Konishi F.: Suppression of LFA-1 Expression by Spermine Is Associated with Enhanced Methylation of ITGAL, the LFA-1 Promoter Area. *PLoS One* **8**:e56056, 2013.
- 29) Shantz LM, Holm I, Janne OA, Pegg AE.: Regulation of S-adenosylmethionine decarboxylase activity by alterations in the intracellular polyamine content. *Biochem J* **288** (Pt 2):511-8, 1992.
- 30) Bestor T, Laudano A, Mattaliano R, Ingram V.: Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases. *J Mol Biol* **203**:971-83, 1988.
- 31) Garcea R, Daino L, Pascale R, *et.al.*: Protooncogene methylation and expression in regenerating liver and preneoplastic liver nodules induced in the rat by diethylnitrosamine: effect of variations of S-adenosylmethionine:S-adenosylhomocysteine ratio. *Carcinogenesis* **10**:1183-92, 1989.
- 32) Zhang Z, Deng C, Lu Q, Richardson B.: Age-dependent DNA methylation changes in the ITGAL (CD11a) promoter. *Mech Ageing Dev* **123**:1257-68, 2002.
- 33) Hashimoto H, Vertino PM, Cheng X.: Molecular coupling of DNA methylation and histone methylation. *Epigenomics* **2**:657-69, 2010.
- 34) Kangaspekka S, Stride B, Metivier R, *et.al.*: Transient cyclical methylation of promoter DNA. *Nature* **452**:112-5, 2008.
- 35) Soda K, Kano Y, Chiba F, Koizumi K, Miyaki Y.: Increased Polyamine Intake Inhibits Age-associated Alteration in Global DNA Methylation and 1,2-dimethylhydrazine-induced Tumorigenesis. *PLoS One* **8**: e64357, 2013.
- 36) Goll MG, Bestor TH.: Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem* **74**:481-514, 2005.
- 37) Kim SH, Kang YK, Koo DB, *et.al.*: Differential DNA methylation reprogramming of various repetitive sequences in mouse preimplantation embryos. *Biochem Biophys Res Commun* **324**:58-63, 2004.
- 38) Morgan HD, Santos F, Green K, Dean W, Reik W.: Epigenetic reprogramming in mammals. *Hum Mol Genet* **14** Spec No 1:R47-58, 2005.
- 39) Li Y, Liu Y, Strickland FM, Richardson B.: Age-dependent decreases in DNA methyltransferase levels and low transmethylation micronutrient levels synergize to promote overexpression of genes implicated in autoimmunity and acute coronary syndromes. *Exp Gerontol* **45**:312-22, 2010.
- 40) Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F.: Polyamines in aging and disease. *Ageing (Albany NY)* **3**:716-32, 2011.
- 41) Oliveira AM, Hemstedt TJ, Bading H.: Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nat Neurosci* **15**:1111-3, 2012.
- 42) Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG, Poole JC, Saldanha S, Tollefsbol T.: Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. *J Cell Biochem* **84**:324-34, 2002.
- 43) Romanenko EB, Demidenko ZN, Vanyushin BF.: RNA-polymerase, DNA-polymerase, DNA-methyltransferase and sphingomyelinase activities in liver nuclei of rats of different Age. *Biochemistry (Mosc)* **63**:159-63, 1998.
- 44) Binh P, N,T., 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.
- 45) Binh PNT, Soda K, Maruyama C, Kawakami M.: Relationship between food polyamines and gross domestic product in association with longevity in Asian countries. *Health* **2**:1390-6, 2010.
- 46) 早田邦康. ポリアミンと健康長寿食. *New Food Industry* **54**:27-36, 2012.
- 47) 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.

納豆が有する t-PA 産生能

— 心筋梗塞, 脳血栓の治療薬および中枢神経系における可能性 —

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 今井 雅敏 (IMAI
Masatoshi) *4 丸山 眞杉 (MARUYAMA Masugi) *4

*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 宮崎大学 医学部応用生理学教室

Key Words : ナットウキナーゼ・t-PA・血栓溶解・凝固線溶系・ジピコリン酸・中枢神経系・脳機能

はじめに

近年明らかになってきた納豆と t-PA (組織型プラスミノゲンアクチベーター) の関係についてまとめた。ナットウキナーゼは直接の血栓溶解酵素であると共に¹⁾, 経口投与すると血管内皮細胞等に働き掛け, それらの細胞が t-PA を放出すると考えられている²⁾。また, 納豆に含まれるイソフラボン・アグリコンであるゲニステインによる t-PA 賦活化, 抗菌剤であるジピコリン酸の役割についても解説する。

その他, 昔から納豆を食べると「頭がよくなる」, 「IQ が高まる」などと言われ, 中枢神経系にも影響すると考えられる。学習, 記憶形成などに及ぼす影響という, 我々にとって最も身近で興味深い項目についても考察する。

ングル領域および活性領域から構成される。

この t-PA は現在, 虚血性脳血管障害, 急性肺塞栓症および急性冠症候群に対する最も強力な血栓溶解薬として高い有効性が証明されている。1995 年に報告された NINDS rt-PA study³⁾ では, 発症 3 時間以内の急性期脳梗塞に対する rt-PA 静注療法が, 社会生活が自立した患者を有意に増加させることを明らかにした。この結果により世界中で脳梗塞に対する rt-PA の使用が認可され, 我が国でも 2005 年から保険適用となった。2008 年に ECASS3 は, rt-PA 静注療法が発症 3 ~ 4.5 時間の脳梗塞にも有意であることを示し⁴⁾, 各国で適用拡大が進んでいる。日本でも発症 4.5 時間までの脳梗塞に保険適用が拡大される見込みである (表 1)。

1. t-PA とは

組織型プラスミノゲンアクチベーターは, 主として血管内皮細胞で産生され循環血液中に分泌される。t-PA は, 527 個のアミノ酸からなる分子量約 7 万の糖たんぱくで, そのアミノ末端からフィンガー領域, EGF 領域, 2 個のクリ

2. 納豆菌による t-PA 産生

市販納豆は現在, 成瀬菌, 宮城野菌, 高橋菌等がスターターとして製造されている。各菌の培養液による t-PA 産生能を, 一定量のヒト t-PA 産生細胞を用いて調べた。その結果, 納豆菌を用いると非常に強いフィブリン (人工血

表1 臨床で用いられている t-PA 製剤

血栓溶解薬	アルテプララーゼ	モンテプララーゼ	パミテプララーゼ
性状	遺伝子組換え 天然型と同一 CHO 細胞由来	遺伝子組換え 変異型 (Cys84Ser)	遺伝子組換え 変異型 (92-173 欠失, Arg275Glu) CHO 細胞由来
虚血性脳血管障害	発症 3 時間以内	—	—
急性心筋梗塞症	発症 6 時間以内		
急性肺血栓塞栓症	—	不安定な血行動態を伴う場合	—

臨床で用いられている t-PA 製剤は、すべて遺伝子組換え型 t-PA (rt-PA) である。アルテプララーゼは天然型 t-PA と同じアミノ酸配列を有していると推定されるが、モンテプララーゼやパミテプララーゼは血中半減期を延長させる目的でアミノ酸置換などを導入した変異型 t-PA 製剤である。日本において、すべての t-PA 製剤が急性心筋梗塞に対する適応があり、アルテプララーゼが虚血性脳血管障害に対して、またモンテプララーゼが急性肺塞栓症に対する血栓溶解薬としてそれぞれ用いられている。

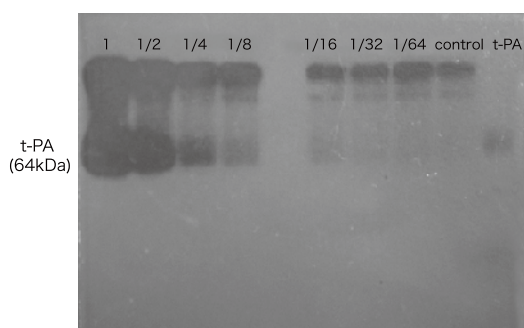


図1 納豆菌による t-PA 産生亢進

栓) 分解活性が現れ、特に成瀬菌で行った場合、それは sample/control = 19.9 (倍) と非常に高まることが分かった ($p < 0.001$, $n = 38$)。ちなみに、大腸菌 IFO3301 では sample/control = 2.0 (倍) 以下であった⁵⁾。この各時点での試料を Zymography で分析したところ、分子量 6.4 万の t-PA バンドが濃度に応じて大きくなっていることがわかった (図 1)。

3. ゲニステインによる t-PA 産生

納豆にはアグリコンタイプのイソフラボンが多く含まれる。図 2 はヒト子宮細胞を用いた t-PA による人工血栓溶解反応をみたものであるが、ゲニステイン添加後の培養液の活性を測定した結果、50 μM 量の添加では 2nd

medium において 10 倍以上の活性を示すことから、t-PA の産生能が高まることが考えられる。それより少ないと効果は弱く、100 μM 量を加えると細胞がダメージを受けることが分かった^{6,7)}。この他、ビオカニン A 添加の場合も 4 倍量の t-PA 放出を示し、溶解活性は有意に高まった。なお、Zymography により t-PA のタンパクバンドが現れること、また t-PA の阻害因子である PAI-1 の抗原量も変化することも確認している (図 3)。

4. ジピコリン酸による t-PA 産生

ジピコリン酸は納豆菌が生産する抗菌物質であり、酒の酵母である *Saccharomyces cerevisiae* (MIC: 0.20 mg/ml) および *E. coli* O-157 (MIC: 4.00 mg/ml) に対し抗菌効果を持つ。かつて、酒屋は決して納豆を食べるなどいわれたことがうなずける。一種のキレート物質として働き、その菌体内濃度が納豆菌の耐熱性と関係するのではないかと考えられている。

図 4 はヒト子宮細胞を用いた t-PA による人工血栓溶解活性を見たものであるが、ジピコリン酸あるいはその誘導体の濃度の違いにより活性が変化していることが分かる。中でも納豆に多く含まれるジピコリン酸 (5mM 2,6-DPA) 添

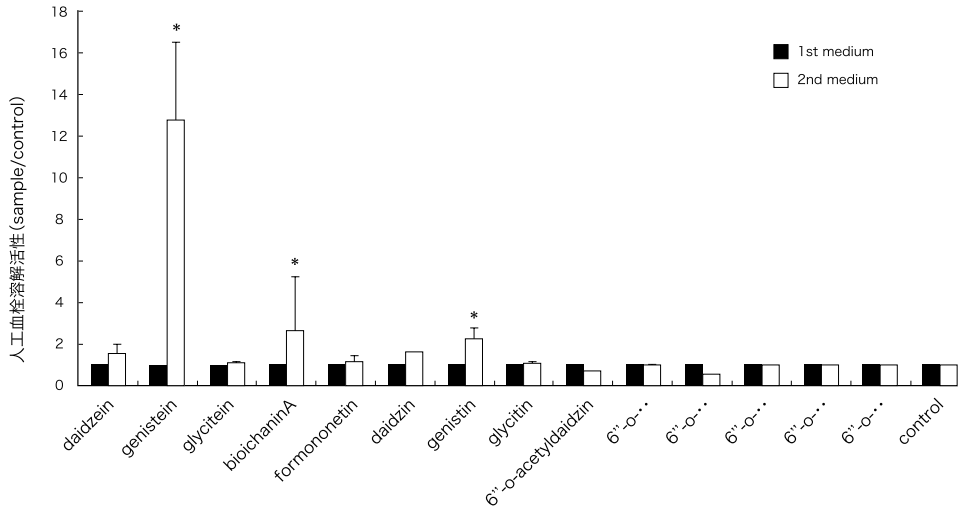


図2 大豆アグリコンによるフィブリン分解活性
50 μM 添加後の放出量を示す。平均±標準偏差 (n=5), *p<0.05

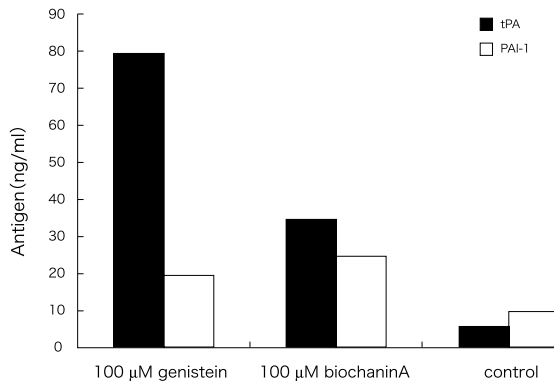


図3 t-PA および同阻害因子の抗原量の変化

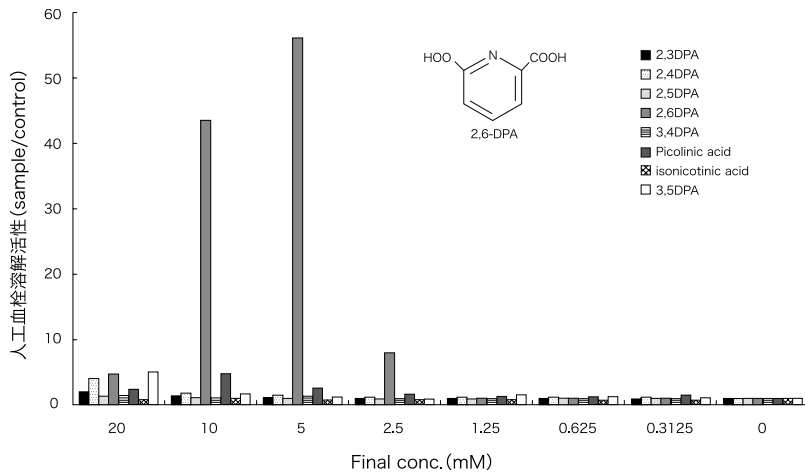


図4 各種ジピコリン酸による人工血栓溶解活性

加により多量の t-PA が放出されること、また遺伝子解析によっても t-PA であることが確認されている (図 5)⁸⁾。

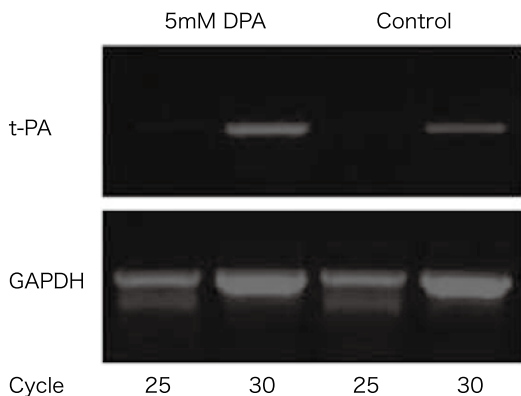


図 5 RT-PCR を用いた遺伝子解析

2,6-ジピコリン酸添加による t-PA 産生量を調べた。アガロースゲルによる電気泳動後、画像解析ソフトを用いてバンド面積を比較した。

5. その他、t-PA の可能性

以上、述べた通り納豆には様々な機能成分が含まれ、それらにより血中の t-PA 濃度が高まれば心臓病をはじめとする血栓性疾患の患者にとってはこんなにありがたいことはないのである。また、t-PA は血液凝固 - 線溶系ばかりでなく神経系とも深く関係してくる。特に、中枢神経系で t-PA が高発現すると t-PA/ プラスミン系は脳機能の調節に重要な役割を果たしていることが明らかになっている (図 6)。t-PA はシナプス小胞に貯蔵され、脱分極により細胞外に

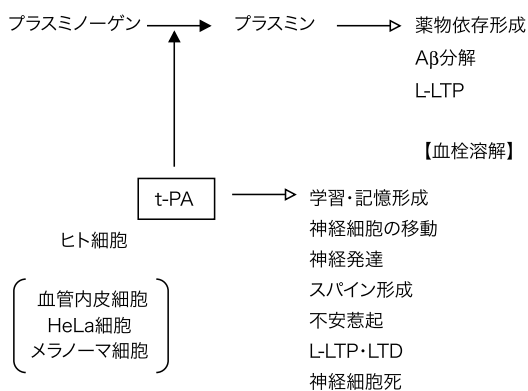


図 6 特に中枢神経系における t-PA / プラスミンの役割

Aβ : amyloid-β,
L-LTP : late phase of long-term potentiation,
LTD : long-term potentiation



図 7 納豆菌の関与する各種薬剤

放出され、神経細胞の移動や神経発達、学習記憶などとも密接に関係すると考えられるからである⁹⁻¹¹⁾。

なお、納豆を摂取すると生体の t-PA 濃度を高め、各種機能性亢進に働くことが動物の下肢灌流実験でも確かめられている¹²⁾。

参考文献

- 1) H. Sumi, H. Hamada, H. Tsushima, H. Mihara, H. Muraki,: A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean in food of the Japanese diet, *Experientia*, **43**:1110-1111, 1987.
- 2) H. Sumi, H. Hamada, H. Nakanishi, H. Hiratani,: Enhancement of fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase, *Acta. Haematol.*, **84**:139-143, 1990.
- 3) The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group,: Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke, *N. Engl. J. Med.*, **333**, 1581-1587, 1995.
- 4) W. Hacke, M. Kaste, E. Bluhmki, M. Brozman, A. Dávalos, D. Guidetti, V. Larrue, K. R. Lees, Z. Medeghri, T. Machnig, D. Schneider, R. von Kummer, N. Wahlgren, D. Toni,: Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke, *N. Engl. J. Med.*, **359**, 1317-1329, 2008.
- 5) C. Yatagai, M. Maruyama, T. Kawahara, H. Sumi,: Nattokinase-promoted tissue plasminogen activator release from human cells, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.*, **36**:227-232, 2009.
- 6) C. Thelwell, C. Longstaff,: The regulation by fibrinogen and fibrin of tissue plasminogen activator kinetics and inhibition by plasminogen activator inhibitor 1, *J. Thromb. Haemost.*, **5**, 804, 2007.
- 7) C. Yatagai, T. Shingu, M. Maruyama, H. Sumi,: Genistein and its analogue enhanced tissue plasminogen activator (t-PA) activity of HeLa S3. *Pathophysiol. Haemost. Thrombo.* **36**, 298-304, 2010.
- 8) T. Ohsugi, H. Sumi,: The effects of dipicolinic acid on the thrombolytic activity of human cells, *J. Food Biochem.*, **35**, 370-380, 2011.
- 9) P. Calabresi, M. Napolitano, D. Centonze, G. A. Marfia, P. Gubellini, M. A. Teule, N. Berretta, G. Bernardi, L. Frati, M. Tolu, A. Gulino,: Tissue plasminogen activator controls multiple forms of synaptic plasticity and memory, *Eur. J. Neurosci.*, **12**, 1002-1012, 2000.
- 10) R. Madani, S. Hulo, N. Toni, H. Madani, T. Steimer, D. Muller, J. D. Vassalli,: Enhanced hippocampal long-term potentiation and learning by increased neuronal expression of tissue-type plasminogen activator in transgenic mice, *EMBO J.*, **18**, 3007-3012, 1999.
- 11) P. T. Pang, H. K. Teng, E. Zaitsev, N. T. Woo, K. Sakata, S. Zhen, K. K. Teng, W. H. Yung, B. L. Hempstead, B. Lu,: Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity, *Science*, **306**, 487-491, 2004.
- 12) T. Ohsugi, E. Sumida and H. Sumi,: Effect of a novel substance from natto on tissue-type plasminogen activator(t-PA) release in perfused rat hindlegs, *Open Food Science J.*, **7**, 1-5, 2013.

米タンパク質に適したプロテオーム解析技術の開発

佐生 愛 (SASOU Ai) *1 重光 隆成 (SHIGEMITSU Takanari) *1 増村 威宏 (MASUMURA Takehiro) *2

*1 京都府立大学大学院 生命環境科学研究科

*2 京都府立大学大学院 生命環境科学研究科, 京都府農林水産技術センター 生物資源研究センター

Key Words : 米加工食品・米タンパク質・プロテオーム解析・二次元電気泳動法・PMF 法

はじめに

イネ種子,即ち米に含まれる栄養成分のうち,デンプンに次いで多く含まれる成分がタンパク質であり,標準的な条件で一般的な品種を栽培すると玄米重量の6~8%となる。アジア圏など米を主食とする民族にとっては,米は重要なタンパク質源である。米に含まれるタンパク質の量と質は,米の食味と関連が深く,食味計の重要なパラメーターになっている。米飯の食味は,タンパク質含量が低いほど良いと指摘されており,栽培現場では施肥管理により米のタンパク質含量が高くなるような指導がされ,各地で良食味米の生産が行われている¹⁾。また,日本酒や,米菓,米粉パンなどの米加工食品の品質にも大きな影響を与える。例えば,日本酒の製造の際には,タンパク質が清酒の雑味の原因となるため,タンパク質含量が低く,大粒で心白のある酒造好適米が利用される。米のタンパク質は主に米粒中の外周部に多く存在するため,酒造りの場合,米の外周部を炊飯米よりも多く削る必要がある。また,現在市販されている米粉パンの場合,米粉のみでは醗酵時,焼成時や焼成後の膨らみが小麦パンよりも低い

している。これは,米のタンパク質が,小麦のタンパク質とは異なる性質を有しており,小麦のように粘弾性に富むグルテンのような構造体を作ることができないということに起因している。上記に挙げたように,米のタンパク質は,米自体の品質評価のみならず,米加工品の品質や加工特性にも深く関わっている。そのため,米タンパク質の種類と,それらの性質を明らかにすることは,米の品質や,加工特性の向上という面で非常に重要であると考えられる。

近年,個々のタンパク質の性質を解析するため,イネでプロテオーム解析が進んできており,イネの収量や品質における多くの知見が得られている^{2,3)}。タンパク質成分を分析する際によく用いられる方法として,ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)法が挙げられる。この方法は,タンパク質の分子量の差によって一次的に分離する方法であり,既製のゲルが販売されているので,簡便に行うことが出来る。また,さらにタンパク質成分を詳細に分析する方法として,二次元電気泳動法が挙げられる。二次元電気泳動法は,まず一次元目を等電点電気泳動などタンパク質の電荷によって分離し,二次元目では SDS-

PAGE法を組み合わせる方法であり、高い分離能が得られる。微量分析が進んだ現在では、分離したゲルから未同定のタンパク質のスポットを切り出し、ゲル内でタンパク質のプロテアーゼ処理を行い、プロテインシーケンサーによるアミノ酸配列同定や、質量分析計 (MS) による解析によって、標的タンパク質の同定が可能となっている。以上のように、二次元電気泳動法はプロテオーム解析を行う際の重要な手法となっている。

イネ種子タンパク質は、水溶性のアルブミン、塩可溶性のグロブリン、アルコール可溶性のプロラミン、希酸、希アルカリ可溶性のグルテリンに分類される。これまでに、アルブミン、グロブリン、グルテリンについては、二次元電気泳動法により分離・同定の研究が進んでいるが、プロラミンについては分離・同定が遅れていた^{4,6)}。近年、二次元電気泳動法によりイネ種子タンパク質のプロテオーム解析が行われ、およそ400のスポットが検出されたが、そのうちプロラミンのスポットは1個しか同定されなかった⁷⁾。しかし、NCBIデータベースによる検索を行うと、プロラミンをコードする遺伝子は34個あり⁸⁾、二次元電気泳動では分離できていないスポットが多数あると考えられた。その原因として、プロラミンは疎水性のタンパク質であるため、従来用いられてきた尿素や非極性の溶解バッファーでは溶解しないという問題点が考えられた。そこで著者らは、プロラミンを抽出するための最適な溶解バッファーの検討を行った。そして、イネ種子貯蔵タンパク質の詳細な解析を目的として、イネ種子タンパク質に適した溶解バッファーを用いて二次元電気泳動法を行い、プロテインシーケンサーやペプチドマスフィンガープリント (PMF) 法を組み合わせ、タンパク質のスポット解析を行った⁹⁾。

1. イネ種子タンパク質の二次元電気泳動

イネ種子 (玄米) は、イネの果実に相当する部分であり、外周部から果皮、種皮、胚 (胚芽)、胚乳から成り、胚乳は、表面を取り巻く糊粉層とその内側に存在するデンプン性胚乳によって構成されている。糊粉層は、登熟過程において脂質、タンパク質、ミネラルなどを蓄積するが、発芽の際にはアミラーゼやプロテアーゼをデンプン性胚乳へ分泌し、胚乳貯蔵物質を分解する機能を併せ持つ。一方、デンプン性胚乳組織は、発芽の際の栄養源となるデンプンや貯蔵タンパク質を合成、蓄積している。

デンプン性胚乳 (精白米に相当する) に存在するタンパク質は、グロブリン、プロラミン、グルテリンが主であり、これらはタンパク質顆粒 (プロテインボディ: PB) に蓄積している。これらのタンパク質は次世代幼植物の窒素源となることから、貯蔵タンパク質と呼ばれている。イネ種子タンパク質を SDS-PAGE 法で分析すると、図1に示したパターンになる。

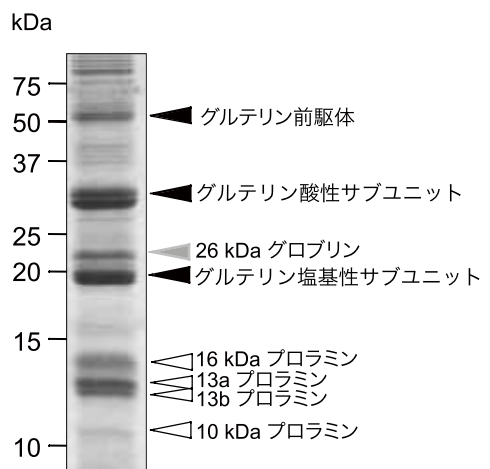


図1 米タンパク質の電気泳動像

イネ種子 (日本晴) タンパク質の SDS-PAGE 解析を行った。右側の矢頭は、それぞれのイネ種子タンパク質を示す。

グルテリンは、57 kDa 前駆体、およびその前駆体がプロセシングされて生じる 37 ~ 39 kDa の酸性サブユニット、21 ~ 23 kDa の塩基性サブユニットとして検出される。グロブリンは、26 kDa α -グロブリンが主に検出され、プロラミンは、16 kDa, 13 kDa, 10 kDa プロラミンとしてバンドが検出される。また、13 kDa プロラミンは Cys 残基の有無でさらに分類されており、Cys 残基を持つ 13a プロラミンと Cys 残基を持たない 13b プロラミンに分けられる。プロラミンは、マルチジーンファミリーを構成しており、NCBI データベースによれば、10 kDa プロラミンは 4 コピー、13a プロラミンは 6 コピー、13b プロラミンは 22 コピー、16 kDa プロラミンは 2 コピー存在すると予測されている⁸⁾。SDS-PAGE 法は、タンパク質を分子の大きさによって分離するため、複数遺伝子によりコードされたポリペプチドが発現していたとしても、分子サイズが似通っていると、その一つ一つを分離・同定することは困難である。その場合、2. で述べる二次元電気泳動法によってタンパク質の分離を行うことで、イネ種子タンパク質のより詳細な解析を行うことが可能になる。

2. 二次元電気泳動法によるイネ種子胚乳タンパク質の解析

二次元電気泳動法は、タンパク質の分離・同定において優れた手法であるが、これまでにイネ種子プロラミンを分離・同定した例はほとんどない。その原因は、プロラミンの溶解性が低いことが原因であると考え、著者らはタンパク質溶解バッファー組成の検討を行った。その結果、不溶性のタンパク質を溶解するのに、尿素とチオ尿素、さらに、界面活性剤として CHAPS を組み合わせると効果的であるという知見を得た^{10,11)}。通常、二次元電気泳動法

を行う際には等電点電気泳動法 (IEF) と SDS-PAGE を組み合わせて分離するのが一般的であるが、プロラミンの分画には、非平衡 pH 勾配電気泳動法 (NEPHGE) と SDS-PAGE の組み合わせが適していた。泳動後のゲルをコロイド CBB 溶液で一晩染色し、その後一晩超純水で脱色を行ったところ、より高分解能のスポットを得ることに成功した (図 2A)。多くのスポットがゲル全面に点在し、およそ 30 ~ 40 kDa 付近に主要なスポットが検出された。これは、グルテリン酸性サブユニットであると考えられた。さらに、11 のスポットが低分子側に検出され (10 ~ 18 kDa) これらはプロラミンであると推定された (図 2B)。低分子側のスポット同定を行うため、ゲルからスポットを切出し、V8 プロテアーゼまたは Lys-C プロテアーゼに

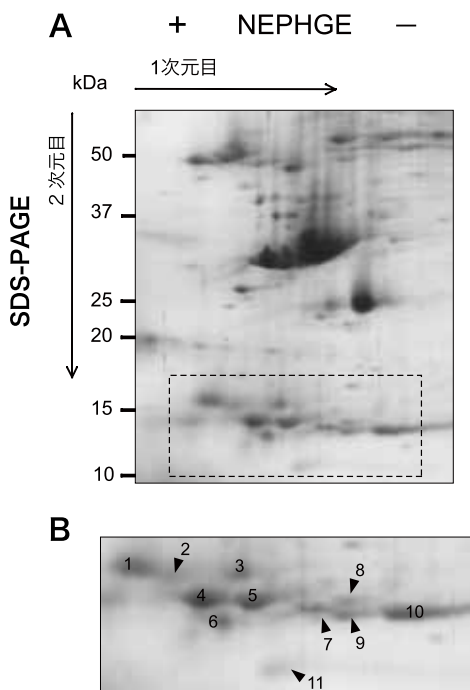


図 2 NEPHGE/SDS-PAGE 法による米タンパク質の二次元電気泳動像

イネ種子タンパク質の二次元電気泳動法によるタンパク質の分離を行った (A)。(A) の点線で囲った部分の拡大図が (B) である。低分子側 (10 ~ 18 kDa 付近) に 11 個のスポットが見られた (B)。

よりゲル内消化を行った後、得られた断片をトリス-トリシン SDS-PAGE 法により分離した。分離後、PVDF メンブレンにブロットし、メンブレン上のペプチドのアミノ酸配列をプロテインシーケンサー（島津製作所）によって決定した。決定したアミノ酸配列を元に、NCBI の BLAST 検索データベースを用いて各スポットのタンパク質同定を行った。その結果を表 1 に示す。低分子側に検出された 11 スポットのうち 8 スポットがプロラミンであり（#3, #4, #5, #7, #8, #9, #10, #11）、その内訳として、#3 は 16 kDa プロラミン、#11 は 10 kDa プロラミン、#4 と #5 は 13a プロラミン、#8 は 13b プロラミンであった。また、#7, #9, #10 は内部配列が同一であり、#8 と同様に 13b プロラミンであると決定した。13b プロラミンはマルチジーンファミリーの中でも相同性の高いタンパク質群であるが、詳細なプロテオーム解析を行うことで、それぞれの遺伝子がコードするアミノ酸配列がタンパク質として実際に翻訳されて

いることが明らかとなった。また、13a プロラミンと 13b プロラミンのバンド強度は、16 kDa プロラミンや、10 kDa プロラミンのバンド強度よりも強く、一次元の SDS-PAGE のバンド強度を反映していた。これまで、二次元電気泳動法ではプロラミンのスポットがほとんど検出されなかったが、NEPHGE / SDS-PAGE 法を用いることで、多くのプロラミン分子種が検出可能となり、そのスポットのアミノ酸配列を決定することにより、タンパク質を同定することに成功した。

3. 二次元電気泳動法によるイネ品種間でのタンパク質スポットの比較

上述したように、これまでにタンパク質スポット解析の知見のほとんどなかったプロラミン分子種について、二次元電気泳動法によって分離・同定することに成功した。そこで、この手法を用いて、種子貯蔵タンパク質の組成変化

表 1

identified protein	Spot No.	N-terminal/internal sequence	Accession No.	Theoretical Mw (Da)/pI
prolamin				
10 kDa prolamin	11	N-ITTMQYFPPT	Os03g0766100	12265/7.6
13a prolamin	4	I-FVRQQHSIVATPF ^{a)}	Os07g0206500	15671/8.45
	5	I-FVRQQYSIVATPF ^{a)}	Os07g0206400	15827/8.44
13b prolamin	8	I-FVRQQYSIAASTF ^{a)}	Os07g0219300	15059/7.02
	7, 9, 10	I-FVRQQYGIAASPF ^{a)}	Os05g0329100	14946/8.22
			Os05g0329400	14974/8.22
			Os05g0330600	14960/8.22
16 kDa prolamin	3	I-FVRQQCSPMS ^{a)}	Os06g0507200	14787/8.02
other				
RAG2	1	I-RQCVGHGAPG ^{b)}		15247/7.69
RA17	2	I-RQCVAPGT ^{b)}		14706/8.11
trypsin/alpha-amylase inhibitor family protein	6	I-LAAVPMQCR ^{a)}	Os07g0216600	14140/7.68
			Os07g0216700	14078/7.65
18 kDa oleosin	3	I-APSASQALTVA ^{b)}	Os03g0699000	17221/10.1

^{a)} Protein was digested with V8 protease

^{b)} Protein was digested with Lys-C protease

を生じている品種について比較を行った。イネのゲノム研究で基準品種として用いられる「日本晴」と、低グルテリン品種として知られている「LGC1」について比較解析を行った。両品種から胚乳タンパク質を抽出し、NEPHGE / SDS-PAGE 法で分離したところ、図 3A, B の

ようになった。図 3A は「日本晴」、図 3B は「LGC1」、図 3C と D は、それぞれの低分子側のスポットを拡大したものである。「LGC1」におけるグルテリンに対応する幾つかのスポットの強度が「日本晴」と比較して減少していた。それとは対照的に、プロラミンに対応するスポット強度は、「日本晴」よりも「LGC1」の方が高かった (図 3C, D)。

そこで、各種プロラミンに対応するスポット強度をマルチゲージソフトウェア (フジフィルム) で数値化し、品種間での比較を行った (図 3E)。その結果、「LGC1」において 13b プロラミンのスポット強度が特に増加していることが明らかとなった (図 3E, #7, #8, #9, #10)。他のプロラミンのスポットでは品種間で差はあまり見られなかった。過去に、イネ種子の登熟期に、ある特定の貯蔵タンパク質の合成が減少すると、他の貯蔵タンパク質が増加すると報告されている¹¹⁾。

それゆえ、種子全体での貯蔵タンパク質の蓄積量はある程度一定に保たれていると考えられる。13b プロラミンは、登熟過程において、他のプロラミン分子種よりも遅れて合成される⁸⁾。「LGC1」において、グルテリンの蓄積量が少ないという情報を貯蔵タンパク質の制御を司るマ

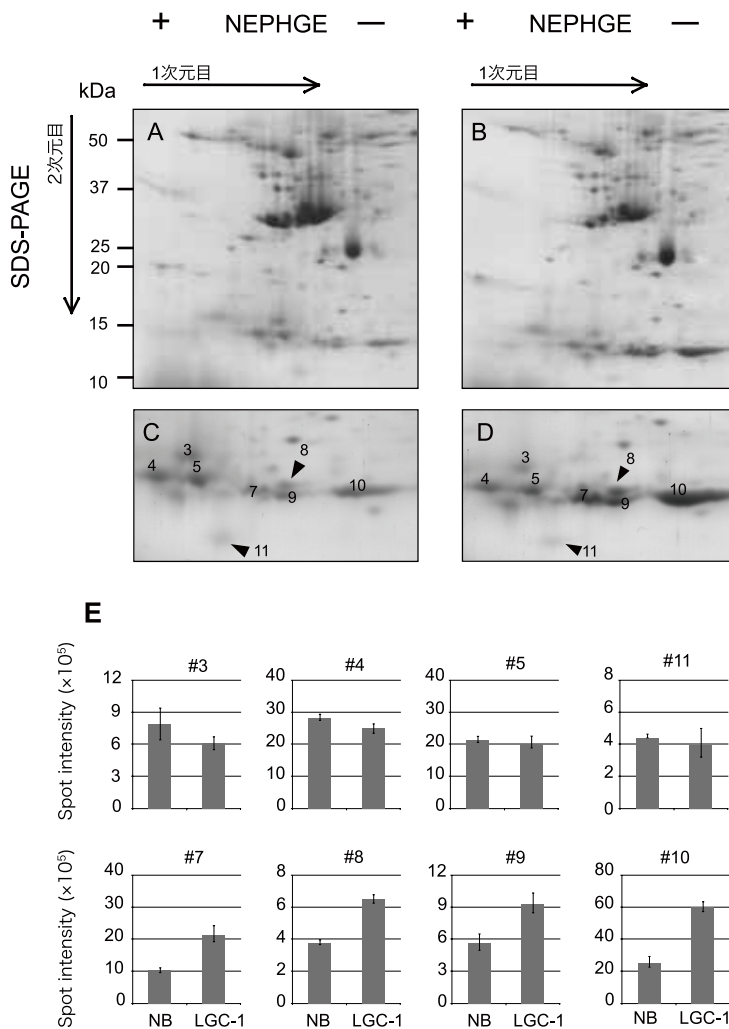


図 3 イネ品種間によるプロラミン分子種の比較

イネの基準品種である「日本晴」と、低グルテリン品種である「LGC1」の各プロラミン分子種のスポットを、マルチゲージソフトウェアを用いてバンド強度を数値化し、比較を行った。(A)と(C)は「日本晴」、(B)と(D)は「LGC1」の二次元電気泳動像を示す。(A)と(B)を比較すると、「LGC1」の方がグルテリンの量が少ないことが分かった。また、低分子側 (10~18 kDa) では、「日本晴」よりも、「LGC1」のほうが、13b プロラミンのスポット強度が高いことが示された (E)。

スター因子が登熟中期に認識し、貯蔵タンパク質の全体量を保つために余ったアミノ酸プールを用いて、登熟後期に13bプロラミンの合成量を増加させるのではないかと推測している。

このように、二次元電気泳動法を用いることで、タンパク質を分子種ごとに詳細に解析するだけでなく、品種間での分子種の違いについて詳細な比較も行うことが可能であった。この手法は、品種間の差だけでなく、環境ストレスを受けたイネ品種における種子貯蔵タンパク質の比較にも応用することが可能であり、今後は米の品質向上のための研究にも大いに貢献できると考えられる。

おわりに

本稿では、イネ種子タンパク質の二次元電気泳動法に基づく詳細なタンパク質解析の手法について紹介した。特に、NEPHGEとSDS-PAGEを組み合わせた二次元電気泳動法を用いることで、これまでにほとんど解析が出来ていなかったプロラミンの分離に成功した。また、二次元電気泳動を行った後に、アミノ酸配列決定を行うことで、特定のタンパク質がどの遺伝子によりコードされているかについても詳細な情報を得ることが出来るようになった。また、近年では、アミノ酸配列決定に代わり、質量分析計を使ってタンパク質を同定するペプチドマスフィンガープリント (PMF) 法も急速に普及し始めた。PMF法は、アミノ酸配列決定法におけるプロテアーゼ処理後のペプチド分画など

の煩雑な操作を省略することが出来る。今後は、二次元電気泳動法とPMF法を組み合わせることで、より迅速で簡便な未知タンパク質の同定を行う事が出来るようになると考えられる。実際に我々は、本稿で紹介した二次元電気泳動法とPMF法を組み合わせ、イネ種子タンパク質の詳細な解析を進めており、現在情報を蓄積しているところである。

「はじめに」で述べたように、米に含まれるタンパク質と炊飯米の食味や米加工品の特性には、深い関係性があると考えられてきたが、これまでの解析では未解明な部分が多かった。本稿で紹介した方法を用いることで、米や、米加工品由来のタンパク質について、ポリペプチドを特定するなどの詳細な解析が可能となった。今後は、米に含まれるタンパク質と食味・加工特性の関係性を明確にすることにより、米の品質や加工食品の特性を向上させることが期待される。

[謝辞]

本研究の一部は、農林水産技術会議平成23-25年度委託プロジェクト研究「米タンパク質の新規生体調節機能性の先導的開発と機構解析」の助成を受けて行われた。また、二次元電気泳動法の解析についてご教授頂きました、京都市産業技術研究所ならびに京都バイオ計測センターの廣岡青央博士、泊直宏氏、山本佳宏氏に深く御礼申し上げます。

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

- 1) 増村威宏, 田中國介: コメの品質, 食味向上のための窒素管理技術 [3] - イネ種子タンパク質の合成・集積と米粒内分布に関する分子機構 - . 農業および園芸, **82**: 43-48, 2007.
- 2) Komatsu S, Kajiwar H, and Hirano H: A rice protein library: a data-file of rice proteins separated by two-dimensional electrophoresis, *Theor. Appl Genet.*, **86**, 935-942, 1993.
- 3) Tsugita A, Kawakami T, Uchiyama Y, Kamo M, Miyatake N, and Nozu Y.: Separation and characterization of rice proteins., *Electrophoresis*, **15**, 708-720, 1994.
- 4) Abe T, Sadimantara GR, Ono M, and Sasahara T.: Variations in glutelin and high molecular weight endosperm

proteins among subspecies of rice (*Oryza sativa* L.) detected by two-dimensional gel electrophoresis., *Genes Genet. Syst.*, **71**, 63-68, 1996.

- 5) Satoh R, Nakamura R, Komatsu A, Oshima M, and Teshima R,: Proteomic analysis of known and candidate rice allergens between non-transgenic and transgenic plants., *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **59**, 437-444, 2011.
- 6) Khan N, Katsube- Tanaka T, Iida S, Yamaguchi T, Nakano J, and Tsujimoto H,: Identification and variation of glutelin alpha polypeptides in the genus *Oryza* assessed by two-dimensional electrophoresis and step-by-step immunodetection., *J. Agric. Food. Chem.*, **56**, 4955-4961, 2008.
- 7) Lin SK, Chang MC, Tsai YG, and Lur HS,: Proteomic analysis of the expression of proteins related to rice quality during caryopsis development and the effect of high temperature on expression. *Proteomics*, **5**, 2140-2156, 2005.
- 8) Saito Y, Shigemitsu T, Yamasaki R, Sasou A, Goto F, Kishida K, Kuroda M, Tanaka K, Morita S, Satoh S, and Masumura T,: Formation mechanism of the internal structure of type I protein bodies in rice endosperm: relationship between the localization of prolamin species and the expression of individual genes., *Plant J*, **70**, 1043-1055, 2012.
- 9) Shigemitsu S, Saito Y, Morita S, Satoh S, and Masumura T,: Separation and Identification of rice prolamins by two-dimensional gel electrophoresis and amino acid sequencing, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 594-597, 2012.
- 10) Natarajan S, Xu C, Caprana TJ and Garrett WM,: Comparison of protein solubilization methods suitable for proteomic analysis of soybean seed proteins., *Anal. Biochem.*, **342**, 214-220, 2005.
- 11) Rabilloud T, Adessi C, Giraudel A, and Lunardi J,: Improvement of the solubilization of proteins in two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients., *Electrophoresis*, **18**, 307-316, 2007.

二枚貝，特にシジミの機能性因子に関する研究

千々松 武司 (CHIJIMATSU Takeshi) *1 山田 耕史 (YAMADA Koji) *2 小田 裕昭 (ODA Hiroaki) *3
望月 聡 (MOCHIZUKI Satoshi) *4

*1 株式会社自然食研, 佐々木食品工業株式会社, *2 長崎大学 医歯薬学総合研究科,

*3 名古屋大学大学院 生命農学研究科, *4 大分大学 教育福祉科学部

Key Words : 貝類・シジミ・機能性食品・血中コレステロール・肝機能障害

人類にとって貝類が重要な食用資源であることは、古代人が喫食したであろう貝の残渣（貝殻）が堆積した貝塚が世界中で見つかっていることからよく分かる。また現代においても貝類は水生生物のなかでも重要な食用資源であり、様々な国で消費されている¹⁾。主に食用として利用されるのは、サザエ、アワビ、ホラガイなどの巻貝とカキやイガイ（ムール貝）、ザルガイ、マテガイ、ホタテ、ハマグリ、アサリ、シジミなどの二枚貝が世界中で食べられている。世界における貝類の生産量（漁獲生産量および養殖生産量の合計）は年々増加しており、FAOの統計によると天然および養殖の貝類（巻貝と二枚貝含む）の漁獲高は、2000年の10,974ktから2010年には15,752ktへ増加している¹⁾。貝類の2010年生産量のうち、15,226ktが二枚貝であり、また、全ての水産資源の約1割を占めており¹⁾、如何に貝類、特に二枚貝が重要な資

源であるかということがよく分かる。本邦では、水生生物は刺身などとして生食する文化があり、特にサザエ、アワビなどの巻貝や二枚貝でもカキやホタテの貝柱などは生食することがある。一方で、本邦以外ではもともと刺身など水産資源を生食する文化はあまりないが、カキはヨーロッパやアメリカなどにおいてもオイスターバーなどで生食する習慣がある。また緑イガイはエキスとしていわゆる健康食品等に利用されているが、もともとはニュージーランドのマオリ族が緑イガイを生食していた。シジミは本邦では、食材として非常になじみの深い魚介類の1つであり味噌汁の具材や佃煮として十分に加熱された上で利用されることが主であるが、台湾では、スープ等の加熱したもの以外にも、半生の状態のシジミを醤油漬けにして食す方法もある。しかしながら、貝類全般は食中毒の問題などがあるため、焼きや、ボイル、蒸し

Corresponding author : 小田裕昭

連絡先 : 〒 464-8601 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院生命農学研究科栄養生化学

E-mail : hirooda@agr.nagoya-u.ac.jp

Tel : 052-789-4124

などによる加熱調理をしてから食されるのが一般的である。

貝類はいろいろな国で食べられている一方で、アジアやオセアニアにおいて、二枚貝は単に食用としてだけではなく、民間療法薬としても利用されてきた^{2,3)}。上述したように緑イガイはニュージーランドで昔から食されてきた食用資源であるが、マオリ族は古くから滋養強壮のために常食していたとされている³⁾。また日本の一部の地域（沖縄）では、ミズイリショウジョウガイが肝臓に良いとされて利用されてきた⁴⁾。また、中国、台湾、日本などの東アジアにおいてはシジミの可食部や抽出液（スープ）が肝臓に良いとされ利用されており、現存する中で最も古い漢方薬について総合的に記載された書物である本草綱目⁴⁾には、シジミは「暴熱を去り、目を明にし、小便を利し、熱気、脚気、湿毒を下し、酒毒目黄を解す。浸した汁を服すれば消渴を治す」とある。また、さらに二枚貝は軟体の可食部だけではなく、貝殻を焼成したのもも伝承薬として使用されている²⁾。

このように、貝類は単なる食材としての価値だけではなく、生理活性物質を生産する資源としても有用な可能性があるが、その科学的根拠はそれほど多く示されていない。機能が未開発の貝類は、様々な新規の生理活性物質を含んでいる可能性が高いと考えている。私たちは、これまで古来より肝臓に良いとされているシジミに注目して肝機能に及ぼす影響を中心として研究を進めており、いくつかの生理活性機能を見つけている。本稿では、貝類の生理活性機能、特にこれまで私たちが研究を進めてきたシジミによる脂質代謝を中心とした肝機能に及ぼす影響について、シジミに含まれる成分との関連についてレビューする。

1. 巻き貝の食品としての機能性

アワビ、サザエ、ホラ貝などの巻き貝の食品機能性に関する報告は限られている。アワビは伝承的に目に良いとされているが、その科学的な根拠は見当たらない。一方で、アワビに含まれる硫酸化多糖に免疫の調整機能、抗腫瘍活性、抗酸化活性などがあることが報告されている^{6,7)}。また、サザエも本邦にて良く食される巻貝の1種であるが、サザエの生理活性性についての研究報告は、ほとんど見当たらない。巻貝の食品としての機能性に関する研究報告は非常に少ないのが現状であるが、一方で今後の機能が期待される食材でもある。

2. 二枚貝の食品としての機能性

貝類のアミノ酸と一口に表現するのは、貝類相互間ではアミノ酸組成はかなりの違いがあるため適切ではないかもしれないが、魚肉エキスと比較すると、総じて貝肉エキスのアミノ酸には、ヒスチジンが少なく、グリシン、アラニン、グルタミン酸、アルギニン、プロリン、アスパラギン酸、タウリンが多いことが報告されている⁸⁾。食事のアミノ酸は単なる窒素源としてだけではなく、その組成は脂質代謝等に影響を及ぼすことが知られている。特に、含硫アミノ酸であるタウリンは脂質代謝を促進することを私たちが報告している⁹⁾。また、グリシンも脂質代謝促進効果^{10,11)}や、肝機能保護効果¹²⁾が報告されているアミノ酸の1つである。

カキ、アサリ、シジミを摂食することによる脂質代謝改善効果が知られているが^{13,14)}、特にこれらの貝類の中性脂肪は多価不飽和脂肪酸を多く含み、肝臓脂肪酸合成系の酵素活性を抑制して脂質代謝に影響を及ぼす可能性が示されている¹⁵⁾。他に貝類の脂肪酸で生理活性性を有

しているものとしては、緑イガイの脂肪酸があり、特にフラン脂肪酸が抗炎症活性成分として同定されている³⁾。

中国原産の二枚貝の1種であるヒレイケチョウガイの多糖類には抗酸化活性があることが報告されている¹⁶⁾。

ホタテは本邦でも代表的な食用貝の1つであるが、可食部は主に貝柱であり、それ以外の部分は廃棄物として出るため、問題となっている。その有効利用につながる機能性として、ホタテ卵巣に含まれるマイコスポリン様アミノ酸が紫外線による細胞傷害に対する保護効果を示すこと、および皮膚繊維芽細胞の増殖を促進することが報告されている¹⁷⁾。また、廃棄物として大量に出ているホタテの貝殻を粉末化したものを投与すると、ラットの白色脂肪組織重量が減少することが報告されている¹⁸⁾。

カキは、シジミ同様に以前から機能性食品として利用されている貝類の1つである。カキ可食部や抽出物は脂質代謝改善効果があることが報告されている^{19, 20)}。多くの魚介類タンパク質の加水分解物がACE阻害活性を示すことが報告されている²¹⁾。いくつかの二枚貝のタンパク質加水分解物でもACE阻害活性があることが報告されており、シジミ、ハマグリ、カキ、ムール貝のタンパク質加水分解物にACE阻害活性がある²¹⁾。同じ二枚貝原料を加水分解しても、分解条件が異なると生成するペプチドも異なるため、その作用の強さや阻害様式は異なる。例えば、Wangらはカキのタンパク質をペプシンで加水分解したものにACE阻害活性があることを報告しているが、このペプチドの阻害様式は非拮抗阻害であり²²⁾、一方Jeらは発酵したカキのソースにACE阻害活性があることを見出しているが、このペプチドの阻害様式は拮抗阻害である²³⁾。

3. シジミの食品としての機能性

3-1. シジミの成分

食材の中でもシジミはオルニチン含量が高いことが報告されている²⁴⁾。オルニチンは、肝保護作用などいくつかの機能性が報告されているアミノ酸の1種であるが²⁵⁾、内沢らはシジミを冷凍処理することにより、シジミ中のオルニチン含量が増加することを報告している²⁶⁾。また、シジミ中には、オルニチンを含むユニークなトリペプチド (acorbine: β -Ala-Orn-Orn) を見い出されている²⁷⁾。冷凍処理は上述のように遊離のアラニンおよびオルニチンを増加させるが、一方でこのacorbine含量を減少させることも報告されている²⁷⁾。また、私たちの研究において、シジミ抽出物のタンパク質画分のアミノ酸組成としては、カゼインと比較するとグリシンが多く、プロリンが少ないことが特徴であった^{28, 29)}。また、ラットにシジミ抽出物のタンパク質画分を投与すると、糞の排泄量が増加することから、難消化性のタンパク質を豊富に含むことも特徴であると思われる³⁰⁾。

脂質成分としては、他の魚介類同様に多価不飽和脂肪酸が含まれる¹⁵⁾。またステロールとして、植物ステロールを含んでいる³¹⁾。シジミなどの動物には植物ステロールの生合成能力はないことが知られているが、エサである植物プランクトンが合成した植物ステロールを取り込んで蓄積しているものと思われる。この植物ステロールがコレステロールの吸収を抑制する可能性も考えられる。また、シジミ中からは新規のステロールとしてポリ酸化ステロールが見いだされている³²⁾。新規の脂質成分としてはシジミ中にいくつかの新規なカロテノイドも見出されている³³⁾。シジミ中のカロテノイドの組成についてもシジミが摂餌している植物プランクトンに由来しているものと思われる、シジミ

の中でも汽水域に生息するシジミと淡水のシジミではカロテノイドの組成が異なることを示している³³⁾。つまり、貝類は自ら機能性成分を生産しなくても、餌を介して微生物、原生生物由来の機能性成分を濃縮する能力を持っている。

以下にこれらの成分がシジミの機能性にどのように関わっているのかについてまとめていく。

3-2. 血中コレステロール低下作用

シジミには強い血中コレステロール低下作用があることが、私たちの研究のみならず、いくつかの研究において報告されている^{29-31, 34-36)}。私たちはまず、シジミを熱水抽出したものを高コレステロール食、または生体異物添加食により飼育したラットの血中コレステロール低下作用を検討した^{29, 31)}。高コレステロール食によりラットを飼育すると食餌由来のコレステロールを取り込むため、高コレステロール血症となる。高コレステロール食によりラットを飼育すると、肝臓でのコレステロールの生合成が抑制され、コレステロール代謝は肝臓コレステロール異化代謝に依存することになる³⁷⁾。一方で、クロレトンなどの生体異物を投与すると、肝臓でのコレステロール合成が活発となり高コレステロール血症となる³⁸⁾。私たちは、この2種類の異なる高コレステロール血症モデルにおいて、シジミ抽出物が血中コレステロール低下作用を示すことを明らかにした^{29, 31)}。シジミ抽出物のコレステロール低下作用のメカニズムとしては、高コレステロール食またはクロレトン添加食どちらの飼料を摂食させたラットにおいても、糞中への中性ステロールと胆汁酸の排泄の促進と、コレステロールから胆汁酸への異化代謝の律速酵素であるコレステロール7 α 水酸化酵素やコレステロール排泄に関わるABCトランスポーターG5/G8の遺伝子発現を促進が重要だと思われる²⁹⁻³¹⁾。次に、私たちはこのシ

ジミ抽出物中でコレステロール代謝を促進に寄与している成分の特定を試みた。私たちが用いているシジミ抽出物の主成分はタンパク質が特に多く固形物中の70%を占めている。また、粗脂質も多く18%であった。この2つ主成分(タンパク質、脂質)画分を調製して高コレステロール食により誘導した高コレステロール血症ラットに投与して、タンパク質、脂質どちらの画分にコレステロール低下作用があるのかを検討した³⁰⁾。その結果、タンパク質画分、脂質画分ともにコレステロール低下作用を示すことがわかったが、脂質画分に特に強いコレステロール低下作用が見られた。タンパク質画分においては中性ステロールの排泄量促進効果は見られないなど、タンパク質画分と脂質画分の作用メカニズムは異なっていた³⁰⁾。シジミ抽出物中のタンパク質画分のアミノ酸組成の特徴として、対照として用いたカゼインと比較してグリシン量が多いことであった。グリシンは、いくつかの研究においてコレステロール低下作用が報告されているアミノ酸の1つである^{39, 40)}。また、先述したようにシジミのタンパク質画分を投与すると、糞の排泄量が増加するため、シジミ抽出物のタンパク質には多くの難消化性タンパク質が含まれていることが推測される。難消化性タンパク質は消化管にて作用して、コレステロールや胆汁酸と結合してそれらの排泄を促進することが知られている⁴¹⁾。私たちの研究においてはタンパク質画分が胆汁酸へ結合して排泄を促進していることは確認できなかったが³⁰⁾、Linらは、シジミの熱水抽出残渣をプロテアーゼ処理物が糞の排泄量を増加させ、また*in vitro*にて胆汁酸結合が高いことを確認している^{35, 36)}。

シジミ抽出物中の脂質画分にタンパク質画分より高いコレステロール低下作用を見出したので、さらに脂質画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより極性の異なる9つの画分に

分け、コレステロール低下作用を検討した³⁴⁾。9つの画分の内2つの画分に強いコレステロール低下作用があることが見出された。コレステロール低下活性の見られた画分はトリアシルグリセロールを含む画分とスフィンゴ脂質を含む画分の2つであった。入谷ら¹⁵⁾の研究においても、シジミから抽出、精製したトリアシルグリセロール画分にコレステロール低下作用があることが示されており、多価不飽和脂肪酸が活性成分である可能性が示されている。しかし、私たちの研究において、シジミ抽出物に含まれる主要な脂肪酸はパルミチン酸 (C16:0) であり、少量のDHAが検出されているものの、動物実験において対照群の飼料に用いた大豆油やラードと比較して多価不飽和脂肪酸が多いという結果ではなかった³⁰⁾。シジミの脂質に含まれる脂肪酸をGC/MSによって分析し、クロマトグラムを確認したところ、一般的な食品に含まれる脂肪酸と比較していくつかのunknownなピークも見つけている^{30, 34)}。そのため、一般的な多価不飽和脂肪酸だけではなく、未同定な脂肪酸がシジミには含まれていて、コレステロール低下作用を示している可能性もあると思われる。現在、私たちはスフィンゴ脂質を含んでいる脂質画分を更に分画して活性成分の特定に取り組んでおり、特定の分子種のみならず、精製された画分においてコレステロール低下作用があることを確認している。このようにシジミ抽出物のコレステロール低下作用において、水溶性、脂溶性ともに複数の化合物が異なるメカニズムで関与しているものと思われる。

植物ステロールは本邦では特定保健用食品の関与成分などとして用いられている食品成分の1つであるが、文字通り植物中の脂質成分として含まれているステロールである。植物ステロールは、その化学構造がコレステロールに似通っているため、腸管内におけるコレステロール吸収の拮抗阻害作用を示すことが知られてい

る⁴²⁾。シジミ中のステロールに関する研究において、しじみに植物ステロールが含まれることが報告されている^{14, 31, 43)}。シジミには植物ステロールの合成作用はないもの、シジミは植物プランクトンを摂餌しており、植物プランクトン由来の植物ステロールを体内に蓄積していると予想される。私たちの研究において、ステロール画分は糞中への中性ステロールの排泄は促進したが、血中コレステロール低下活性は顕著ではなく、血中コレステロール濃度を低下させるほど十分な量が含まれなかったと推測される³⁴⁾。

3-3. 脂肪肝抑制、肝障害抑制

シジミを摂食することによって脂肪肝を抑制することが知られている^{28, 29)}。シジミには肝臓脂質代謝を変動させることが見出されている^{13-15, 29, 44)}。多価不飽和脂肪酸を多く含む貝類の中性脂肪画分が、肝臓のグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、リンゴ酸酵素、アセチルCoAカルボキシラーゼなどの脂肪酸合成酵素系の活性を抑制して脂質代謝に影響を及ぼすことが示されている¹⁵⁾。我々の研究においても、シジミ抽出物が脂質代謝の中心的な転写因子であるSREBP-1を低下させることにより、肝臓への中性脂肪の蓄積を抑制していることを明らかにした⁴⁴⁾。近年、特に先進国では富栄養状態が続くことによりメタボリックシンドロームを背景に持つ脂肪肝から脂肪性肝炎への進展が増加している。脂肪肝はもともと臨床的にあまり重要視されない疾病であったが、脂肪性肝炎は肝硬変、肝がんへ進展する可能性が高いため、問題視されている。脂肪性肝炎が他の脂肪肝と比較してどのような特徴があり、どのような動物脂肪肝モデルが適切であるかなどまだ不明な点も多いが、シジミによる予防効果が期待される。

特に昔からシジミは肝臓に良いとされており、肝障害を抑制する作用が私たちの研究結果

を含めいくつか報告されている。シジミ抽出物は、ラットにおいて実験的肝障害モデルであるガラクトサミン投与²⁸⁾、四塩化炭素投与⁴⁵⁾、大量出血⁴⁶⁾における肝細胞傷害に対して保護作用を示すことが報告されている。肝障害において肝臓マクロファージのクッパー細胞から放出される腫瘍壊死因子 (TNF) α が細胞傷害において重要な役割を果たしている。シジミ抽出物の投与は TNF α の産生を抑制することが報告されている⁴⁶⁾。私たちは、シジミ抽出物を等電点電気泳動や逆相クロマトグラフィーにより分画して肝傷害予防効果を有する成分の同定を試みたところ、ウラシルおよびそのヌクレオシドのウリジンである可能性が示唆された⁴⁷⁾。ウリジンは、すでに肝傷害を予防することが報告されており、クッパー細胞による TNF α の産生を抑制するためであるとされている⁴⁸⁾。

また、シジミ抽出物に豊富に含まれるアミノ酸であるグリシンには肝保護作用が報告されている⁴⁸⁾。ウリジン同様にグリシンにも TNF α の産生を抑制することが報告されている^{48, 49)}。シジミに多いオルニチンにも肝保護作用が報告されている²⁵⁾。また、オルニチン含有ペプチドである acorbine には、マウス個体や培養細胞を用いた実験により、アルコール投与による肝障害および脂肪肝を抑制する可能性が示めされている⁵⁰⁾。一方で、Lin らはシジミに含まれる植物ステロールや脂肪酸を含む脂溶性画分が TNF α の産生を抑制することを報告している⁵¹⁾。以上のように、シジミは脂質代謝に影響を及ぼし肝臓への脂肪の蓄積を抑制し、また炎症性サイトカインの産生を抑制する成分を含み肝障害を抑制することから、これまで有効な治療方法が見つかっていない非アルコール性脂

表1 これまで報告されたシジミの機能性とそれを担う成分

成分	機能性	引用
可食部すり身	血中コレステロール低下作用	14)
可食部熱水抽出物 (粗抽出物)	血中コレステロール低下作用 脂肪肝抑制 肝障害抑制 抗運動ストレス	29), 30) 28), 29) 28), 45), 46) 55)
水溶性成分		
アミノ酸		
オルニチン	肝障害抑制	25)
グリシン	血中コレステロール低下作用 肝障害抑制	39), 40) 48)
ペプチド		
acorbine : β -Ala-Orn-Orn	肝障害抑制	50)
難消化性タンパク質	血中コレステロール低下作用	30)
核酸		
ウラシル, ウリジン	肝障害抑制	47)
多糖類 (CFPS-2)	抗酸化 抗腫瘍活性	52) 52)
脂溶性成分 (クロロホルム可溶部)	血中コレステロール低下作用 抗炎症	30) 52)
トリアシルグリセロール画分 (シリカゲルカラムクロマトグラフィー)	血中コレステロール低下作用	15), 34)
多価不飽和脂肪酸	血中コレステロール低下作用	15)
ステロール		
植物ステロール	血中コレステロール低下作用	14), 31), 42)
ポリ酸化ステロール	抗腫瘍活性	32)

肪肝や非アルコール性脂肪性肝炎に対する効果も期待される。

3-4. 抗腫瘍活性

Liao らは、シジミ中の多糖類画分に強い抗酸化および抗腫瘍活性があることを報告している⁵²⁾。シジミからは、植物ステロール以外にも2つの新規のポリ酸化ステロールが近年同定されており、これらのステロールはヒト肝がん細胞である HepG2 に対し細胞毒性を示すことが報告されている³²⁾。

3-5. その他の機能性

インスリン抵抗性は、血中遊離脂肪酸の上昇を伴っていることが報告されているが⁵³⁾、シジミ抽出物およびその脂質画分、タンパク質画分が高脂肪・高コレステロール食を投与したラットの血中遊離脂肪酸の上昇を抑制することをわかった³⁰⁾。さらに、私たちはシジミ抽出物を投与したラットの肝臓において SCD1 (Stearoyl-CoA desaturase-1) の発現が抑制されていることを報告した⁴⁴⁾。SCD1 は脂肪酸の不飽和化にかかわる酵素であるが、SCD1 欠損マウスは、インスリン感受性が増加することが報告されている⁵⁴⁾。シジミの投与によりインスリン感受性が増加するかについては今後の検討が必要であるが、これらの結果はシジミ抽出物が抗糖尿病作用をもつ可能性を示していると思われる。

Huang らは⁵⁵⁾、シジミ抽出物を投与したラットに対しドレッドミルを使った強制運動試験を実施して、運動時間の増加や筋肉細胞の傷害の指標であるクレアチンキナーゼや乳酸脱水素酵素の活性増加をシジミ抽出物の投与が抑制することを報告している。

おわりに

これまでの研究によりシジミ中には様々な機能性成分があり、また様々な機能性成分が含まれていることが報告されている。医薬品の

ように単一の成分だけが作用しているのではなく、複数成分の相乗的な効果として機能性が発揮されていると考えられる。それらの成分の作用機序は異なっている場合でも、食品として複数の作用点に作用することで、相加的・相乗的な作用が生じることも考えられる。例えば、私たちの研究ではシジミ抽出物の脂質画分およびタンパク質画分にはアディポネクチンの上昇効果は見られなかったが、その両方を含むシジミ抽出物にはアディポネクチンを増加させる作用があった³⁰⁾。また、コレステロール低下作用においても、ステロール、脂肪酸、その他の脂質、水溶性成分などシジミに含まれる様々な成分が作用を示すことが明らかとなってきた^{30,34)}。以上のように、シジミは multi-nutrient であり multi-function である。今後、その全容が明らかになってくるものと期待される。

これまで多くの研究が陸生生物の生理活性成分を求めて行われてきたが、水生生物は生息環境が陸生生物とは全く異なり代謝経路も異なるため、新規生理活性成分を発見する可能性が高い。マリンバイオテクノロジーへの関心が高まるなか、新規化合物の発見により創薬のシーズを提供するだけでなく、機能性食品としての可能性も大きい。水生生物の中でも、これまで貝類の機能性は未開発の部分が大きく、新規作用も含め様々な新規化合物を有する可能性が期待できるものと思われる。また、貝類に含まれる機能性成分には、ステロールやカロテノイドなどの飼料由来成分もある。いくつかの貝は養殖技術も確立されており、養殖方法により生理活性物質を富化した機能性食品や、新規生理活性物質を生産するための生物工場としての開発も期待される。このように、貝類には様々な可能性が秘められているものと思われ、貝類の生理活性について更なる研究が進むことが期待される。

..... 参考文献

- 1) Food and Agriculture Organization of the United Nations: FishStt Plus, <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en>
- 2) MM Mahawar, DP Jaroli: Traditional knowledge on zootherapeutic uses by the Saharia tribe of Rajasthan, India. *J Ethnobiol Ethnomed*, **3**: 25, 2007.
- 3) T Wakimoto, H Kondob, H Nii, *et al.*: Furan fatty acid as an anti-inflammatory component from the green-lipped mussel *Perna canaliculus*. *PNAS*, **108**, 17533, 2011.
- 4) 李時珍: 本草項目
- 5) T Koyama, R Chouan, D Uemura, *et al.*: Hepatoprotective effect of a hot-water extract from the edible thorny oyster *Spondylus varius* on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, **70**: 729, 2006.
- 6) L Sun, B Zhu, D Li, *et al.*: Purification and bioactivity of a sulphated polysaccharide conjugate from viscera of abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Food Agric Immunol*, **21**: 15, 2010.
- 7) BW Zhu, DY Zhou, T Li, *et al.*: Chemical composition and free radical scavenging activities of a sulphated polysaccharide extracted from abalone gonad (*Haliotis Discus Hannai* Ino). *Food Chem*, **121**: 712, 2010.
- 8) 高木 光造, 飯田 優, 村山 花子, 他: 貝肉のエキスアミノ酸組成. 北海道大學水産學部研究彙報, **21**: 128, 1970.
- 9) H Oda.: Functions of sulfur-containing amino acids in lipid metabolism. *J Nutr*, **136**: 1666S, 2006.
- 10) ME Hafidi, I Pérez, J Zamora *et al.*: Glycine intake decreases plasma free fatty acids, adipose cell size, and blood pressure in sucrose-fed rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **287**: R1387, 2004.
- 11) T Park, J Oh, K Lee: Dietary taurine or glycine supplementation reduces plasma and liver cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed a cholesterol-free diet. *Nutr Res*, **19**:1777, 1999.
- 12) RF Stachlewitz, V Seabra, B Bradford, *et al.*: Glycine and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells. *Hepatology*, **29**:737, 1999.
- 13) N Iritani, E Fukuda, K Inoguchi: Influences of oyster or clam feeding on lipid metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo), **25**:205, 1979.
- 14) N Iritani, E Fukuda, K Inoguchi: Effect of feeding the shell fish (*Corbicula japonica*) on lipid metabolism in the rat. *Atherosclerosis*, **34**: 41, 1979.
- 15) N Iritani, E Fukuda, K Inoguchi, *et al.*: Reduction of lipogenic enzymes by shellfish triglycerides in rat liver. *J Nutr*, **110**: 1664, 1980.
- 16) D Qiao, C Ke, B Hu, *et al.*: Antioxidant activities of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*. *Carbohydr Polym*, **78**: 199, 2009.
- 17) C Oyamada, M Kaneniwa, K Ebitani, *et al.*: Mycosporine-like amino acids extracted from scallop (*Patinopecten yessoensis*) ovaries: UV protection and growth stimulation activities on human cells. *Mar Biotechnol* (NY) **10**: 141, 2008.
- 18) YC Liu, Y Hasegawa: Reducing effect of feeding powdered scallop shell on the body fat mass of rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, **70**: 86, 2006.
- 19) K Tanaka, I Ikeda, A Kase, *et al.*: Effects of feeding oyster, *Crassostrea gigas*, on serum and liver lipid levels in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo), **49**: 100, 2003.
- 20) Y Kimura, H Ohminami, H Okuda: Effects of extract of oyster on lipid metabolism in rats. *J Ethnopharmacol*. **59**: 117, 1998.
- 21) I Wijesekara, SK Kim: .Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitors from marine resources: Prospects in the pharmaceutical industry. *Mar Drugs*, **8**: 1080, 2010.
- 22) J Wang, J Hu, J Cui, *et al.*: Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Food Chem*. **111**: 302, 2008.
- 23) JY Je, JY Park, WK Jung, *et al.*: Isolation of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitor from fermented oyster sauce, *Crassostrea gigas*. *Food Chem*. **90**: 809, 2005.
- 24) HC Wu, CY Shiau: Proximate composition, free amino acids and peptides contents in commercial chicken and other meat essences. *J Food Drug Anal*, **10**: 170, 2002.
- 25) L Bucci, JF Hichson, JM Pivarnik, *et al.*: Ornithine ingestion and growth hormone release in bodybuilders. *Nutr Res*, **10**: 239, 1990.
- 26) H Uchisawa, A Sato, J Ichita, *et al.*: Influence of low-temperature processing of the brackish-water bivalve, *Corbicula japonica*, on the ornithine content of its extract. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**: 1228, 2004.
- 27) H Uchisawa, T Naraoka, T Ono: A novel ornithine-containing tripeptide isolated from the extract of the brackish-water bivalve *Corbicula japonica*. *Biochim Biophys Acta*, **1770**: 790, 2007.

- 28) 千々松 武司, 山田 亜希子, 宮木 寛子, 他: タイワンシジミ抽出物がラットの肝機能に及ぼす影響. 食科工誌, **55**: 63, 2008.
- 29) T Chijimatsu, I Tatsuguchi, H Oda, *et al.*: A freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract reduces cholesterol level and hepatic lipids in normal and xenobiotics-induced hypercholesterolemic rats. *J Agric Food Chem*, **57**: 3108, 2009.
- 30) T Chijimatsu, M Umeki, Y Okuda, *et al.* The fat and protein fractions of freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract reduce serum cholesterol and enhance bile acid biosynthesis and sterol excretion in hypercholesterolaemic rats fed a high-cholesterol diet. *Br J Nutr*, **105**: 526, 2011.
- 31) T Chijimatsu, I Tatsuguchi, K Abe, *et al.*: A freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract improves cholesterol metabolism in rats fed on a high-cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, **72**: 2566, 2008.
- 32) ZL Kong, S Chi Yu, S Ai Dai, *et al.*: Polyoxygenated sterols from freshwater clam. *Helv Chim Acta*, **94**: 892, 2011.
- 33) T Maoka, Y Fujiwara, K Hashimoto, *et al.*: Carotenoids in three species of corbicula clams, *Corbicula japonica*, *Corbicula sandai*, and *Corbicula* sp. (Chinese freshwater corbicula clam). *J Agric Food Chem*, **53**, 8357, 2005.
- 34) T Chijimatsu, M Umeki, Y Kataoka, *et al.*: Lipid components prepared from a freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract ameliorate hypercholesterolaemia in rats fed high-cholesterol diet. *Food Chem*, **136**: 328, 2013.
- 35) YH Lin, JS Tsai, LB Hung, *et al.* Hypocholesterolemic effect of compounded freshwater clam protein hydrolysate and *Gracilaria*. *Food Chem*, **123**: 395, 2010.
- 36) YH Lin, JS Tsai, LB Hung, *et al.* Plasma lipid regulatory effect of compounded freshwater clam hydrolysate and *Gracilaria* insoluble dietary fibre. *Food Chem*, **125**: 397, 2011.
- 37) JM Dietschy, MD Siperstein: Effect of cholesterol feeding and fasting on sterol synthesis in seventeen tissues of the rat. *J Lipid Res*, **8**: 97, 1967.
- 38) H Oda, N Matsushita, A Hirabayashi, *et al.*: Hyperlipoproteinemia in rats fed polychlorinated biphenyls. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo), **36**: 117, 1990.
- 39) K Sugiyama, Y Kushima, K Muramatsu: Effects of sulphur-containing amino acids and glycine on plasma cholesterol level in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric Biol Chem* **49**: 3455, 1985.
- 40) RG Herrmann. Effect of taurine, glycine and β -sitosterols on serum and tissue cholesterol in the rat and rabbit. *Circ Res*. **7**: 224, 1959.
- 41) 加藤 範久. 消化管で作用する疾病予防成分に関する栄養学的研究. 栄食誌, **65**: 253, 2012.
- 42) 池田郁男: 動脈硬化を予防する食品成分の生理機能の解明. 栄食誌, **62**: 99, 2009.
- 43) T Basen, D Martin-Creuzburg, KO Rothhaupt: Role of essential lipids in determining food quality for the invasive freshwater clam *Corbicula fluminea*. *J N Am Benthol Soc*, **30**: 653, 2011.
- 44) T Laurent, Y Okuda, T Chijimatsu, *et al.*: Freshwater clam extract ameliorates triglyceride and cholesterol metabolism through the expression of genes involved in hepatic lipogenesis and cholesterol degradation in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013: 830684, 2013.
- 45) CL Hsu, CC Hsu, GC Yen: Hepatoprotection by freshwater clam extract against CCl4-induced hepatic damage in rats. *Am J Chin Med*, **38**: 881, 2010.
- 46) TC Peng, YM Subeq, CJ Lee, *et al.*: Freshwater clam extract ameliorates acute liver injury induced by hemorrhage in rats. *Am J Chin Med*, **36**: 1121, 2008.
- 47) 望月 聡, 千々松 武司, 佐藤 健司, 他: タイワンシジミ抽出物の肝障害予防効果 平成 22 年度日本水産学会春季大会要旨集
- 48) RF Stachlewitz, V Seabra, B Bradford, *et al.*: Glycine and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells. *Hepatology*, **29**:737, 1999.
- 49) MD Wheeler, K Ikejema, N Enomoto, *et al.*: Glycine: a new anti-inflammatory immunonutrient. *Cell Mol Life Sci*, **56**: 843, 1999.
- 50) 内沢 秀光, 白川 和浩, 齋藤 ゆかり, 他: シジミ抽出液由来オルニチン含有新規トリペプチド 'Acorbine' の肝保護効果. 日本農芸化学大会 2012 年度大会要旨集
- 51) CM Lin, YL Lin, NM Tsai, *et al.*: Inhibitory effects of chloroform extracts derived from *Corbicula fluminea* on the release of pro-inflammatory cytokines. *J Agric Food Chem*. **60**: 4076, 2012.
- 52) N Liao, S Chen, X Ye, *et al.*: Antioxidant and anti-tumor activity of a polysaccharide from freshwater clam, *Corbicula fluminea*. *Food Funct*, **4**: 539, 2013.
- 53) TKT Lam, H Yoshii, CA Haber, *et al.*: Free fatty acid-induced hepatic insulin resistance: a potential role for protein kinase C- δ . *Am J Physiol Endocrinol Metab* **283**: E682, 2002.
- 54) R Gutiérrez-Juárez, A. Pocai, C. Mulas *et al.*: Critical role of stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) in the onset of diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest*, **116**: 1686, 2006.
- 55) KC Huang, WT Wu, FL Yang, *et al.*: Effects of freshwater clam extract supplementation on time to exhaustion, muscle damage, pro/anti-inflammatory cytokines, and liver injury in rats after exhaustive exercise. *Molecules*, **18**: 3825, 2013.

愛媛県産六条大麦「はだか麦」の 利用拡大を目指した地域連携（その2）

渡部 保夫 (WATANABE Yasuo) *

* 愛媛大学 農学部

Key Words : はだか麦, β グルカン, 食物繊維

Key Words : hulless barley, beta-glucan, dietary fiber

はじめに

愛媛県の六条大麦「はだか麦」生産量は、昨年度で25年連日本一であった。はだか麦は、麦味噌、麦焼酎、押し麦などの形で消費されているが、はだか麦の需要量は、生産量を上回っているようで、作付けが増加すればより一層消費の増加は期待できる。水稲においても、国からの補助（関税などを含む）のもとで国策的に生産されている食材であるが、消費は減少していると聞く。一方、はだか麦は水稲の裏作作物であることから、古くは稲作農家により一定の生産が期待できたが、兼業農家としては、はだか麦による収入が十分でないことから、はだか麦の小規模栽培には消極的であり、篤農家集団によって栽培されているところである。

前稿で、ギャバ (γ アミノ酪酸, GABA) の効能を中心に、もち麦やはだか麦の利用拡大を指向した商品開発の一端をご紹介した¹⁾。本稿では、はだか麦のもつ健康的効能のうち、水溶性食物繊維 β グルカンを中心に述べるが、両稿を合わせて、はだか麦やもち麦がもつ保健的

効能を広く一般に周知していただき、さらに、いろいろな食品に加工・利用できる応用例をご紹介して、地域的農商工連携を刺激することで、愛媛県を含めた地域での「はだか麦」や「もち麦」の生産量が増加することを願いながら研究の一端をご紹介する。

なお、ご紹介する研究の一部は、平成24年度愛媛大学地域連携プロジェクト支援経費により実施したものであり、後ほどご紹介するプロジェクトメンバーのご協力があったことを強調しておきたい。

1. 六条大麦「はだか麦」に多く含まれる水溶性食物繊維 β グルカン

大麦類には、水溶性食物繊維である β グルカンが多く含まれており、付加価値を与えた商品を開発する上では、特に重要なキーワードである。それ以外の高分子多糖類に由来する不溶性食物繊維も多く含まれている。日本食品標準成分表から²⁾、いろいろな食材や食品の水溶性と

Corresponding author: 渡部保夫 (Yasuo Watanabe) E-mail : watanabe@agr.ehime-u.ac.jp

連絡先 : 〒790-8566 愛媛県松山市樽味3丁目5番7号

愛媛大学農学部生物資源学科応用生命化学教育専門コース

Tel/Fax : 089-946-9849

不溶性の食物繊維の含量 (g / 100g) を図 1 に示した。大豆に多く含まれており、おから、きな粉の含量が高い。ポップコーンも多いように

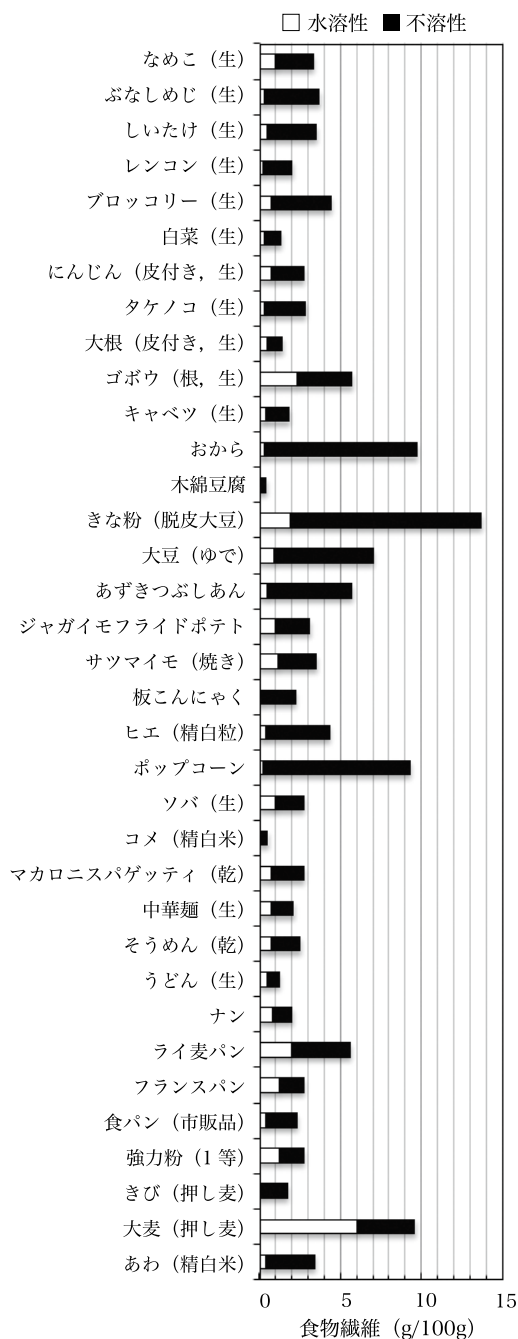


図1 食品中の食物繊維 (水溶性と不溶性) 含量 (五訂日本食品標準成分表 (100g 当たりの g), こんにやく精粉: 水: 73.3g, 不: 6.6g)

あるが、ほとんど不溶性の食物繊維が占めている。穀類の中では、ライ麦で作られたパンや精白ヒエ、精白あわも含量が高いが、大麦 (押し麦) が特に高い。押し麦は精白したはだか麦を蒸気加熱、ローラーで押しつぶした後乾燥したものであるため、精白ははだか麦粉と同質と考えられる。大麦は、特に水溶性の食物繊維 (β グルカン) の割合が高く、他の食材には無い特徴である。大麦は、不溶性食物繊維 (不) 6.0g、水溶性食物繊維 (水) 3.6g であり、詳しく他の穀類を比較してみると日本食品標準成分表から、精白ヒエ (水: 0.4g, 不: 3.9g) 生ソバ (水: 1.0g, 不: 1.7g)、精白米 (水: 0.0g, 不: 0.5g)、ライ麦パン (水: 2.0g, 不: 3.6g)、強力粉 (水: 1.2g, 不: 1.5g)、精白きび (水: 0.1g, 不: 1.6g)、精白あわ (水: 0.4g, 不: 3.0g) であり、大麦の食物繊維の多さが際立っている。食物繊維の代表する食材と言われる板こんにやく (水: 0.1g, 不: 2.1g, なお、こんにやく精粉では水溶性食物繊維が非常に多い (図1 脚注)) や野菜のゴボウ (水: 2.3g, 不: 3.4g) と比べてもその含量は高い。

食物繊維は大きく水溶性と不溶性の二種に分けられるが、それらの効能について概説する³⁾。食物繊維は、消化器官で膨潤して容積が大きくなり、消化器官内での移動速度が遅くなり、胃に満腹感を与えることで、糖質、脂質、タンパク質などエネルギーの摂取を抑え、肥満防止に繋がる。グルコースの吸収速度も遅くなり、インスリン上昇抑制効果があり、結果的に糖尿病の予防に結びつく。特に、水溶性食物繊維は、食事や胆汁のコレステロールの腸からの吸収を低下させて血中コレステロール正常化効果を示す。発がん物質を吸着して大腸がんの発生を抑制する効果、大腸で便容積を増加させ、腸内容物の滞留時間を短くし排便をよくすると言われている。

本誌において既にご紹介したが⁴⁾、大麦類の機能について特記すべきこととして、米国食品

はだか麦畑のふわふわパンの素 農食物繊維/食パン1枚 約3.5g (1斤5枚切りの場合)

ホームベーカリーで簡単に作れます

材料
【食パン1斤分】
●パン用はだか麦粉—250g
●無塩バター—10~20g
●水(冷水5℃)—210cc
●ドライイースト—4g (小さじ1杯)

作り方
パン用はだか麦粉250g(1/2袋)と、細かくした無塩バター約10gを計量し、水210ccを入れ、ドライイースト4gを専用の場所に入れて、焼いてください。
その際には、お持ちの機種取扱説明書をよくお読みいただき、ご使用ください。ホームベーカリーの「米粉パン、小麦入りコース」で焼いてください。

250g当たり 1斤分 食物繊維 17.5g
小麦強力粉の2.5倍

ホームベーカリーで簡単調理 柔らかい 滋味あふれる 手ごねで

はだか麦畑のパンケーキミックス 農食物繊維/パンケーキ1枚 約2.3g (本品100gで約4枚分の場合)

ホットプレートで簡単に作れます

材料
【パンケーキ4枚分】
●パンケーキミックス 1カップ—100g
●水—150cc~160cc
または牛乳—170cc

作り方
ボウルに本粉1カップ(100g)と水150cc~160cc(牛乳の場合170cc)を入れてしっかり混ぜます。160℃に温めたホットプレートに、生地をお玉などで流し入れ、約2分30秒焼きます(牛乳の場合は約2分)。表面に気泡が立ったら裏返して、約2分ほど焼きます。爪楊枝を刺してみれば生地がつかなければ出来上がりです。

100g当たり 食物繊維 9.3g
小麦強力粉の4倍

水又は牛乳と混ぜるだけ 柔らかいもちもち食感 歯ばしい味と香り ハムやチーズと朝食にも

図2 はだか麦粉を用いて食パン、パンケーキを作る (株)マエダ ☎0895-22-2765)

医薬局 (FDA) は、「大麦のβグルカンはコレステロールの低減効果を持つこと、それにより大麦及び大麦を含む食品を摂取することで冠状心疾患の危険を減らすことを認める」と発表している。総コレステロールの数値やLDLコレステロールの数値は、高コレステロール血症や動脈硬化の指標とされることから、生活習慣病との関係から気になるところであるが、これらの数値の低減に、大麦βグルカンに効果があると報告されており⁵⁾、他の穀物由来のβグルカンについても同様の効果が示され^{6,7)}、大いに注目されている機能成分である。

2. はだか麦粉を用いた食パン

はだか麦粉にはグルテン様タンパク質が含まれないことから、そのまま、はだか麦粉で食パンを製造すると膨張率が悪く、きれいにふくれず形状が悪い。前稿でもご紹介したギャバ強化食パンもヌカなどで製造したギャバエキスを小麦粉に加えて製造している。共同研

究企業 (株)マエダ) と愛媛県産業技術研究所は新しい技術を開発して共同出願しているが⁸⁾、「パン用はだか麦粉」を製造し、「はだか麦畑のふわふわパンの素」(株)マエダ)の商品名で市販しており、1斤(250g)当たり17.5gの食物繊維を摂取できる。小麦粉強力粉の2.5倍の含量をアピールしているが、ホームベーカリーで簡単に「はだか麦食パン」が製造可能である。別に、はだか麦粉を用いたパンケーキミックスも製造し、「はだか麦畑のパンケーキミックス」(株)マエダ)の商品名で市販している。100g当たり9.3gの食物繊維を摂取できるとしている(図2)。

3. はだか麦お好み焼き

はだか麦粉を使った食品商品として、関西風お好み焼きを試作した(図3)。小麦粉をはだか麦粉に置き換えたが、例えば、はだか麦粉150g、水適量、卵1個、だしの素1袋、キャベツ千切り1/4個であり、ネギ、山芋などお好み

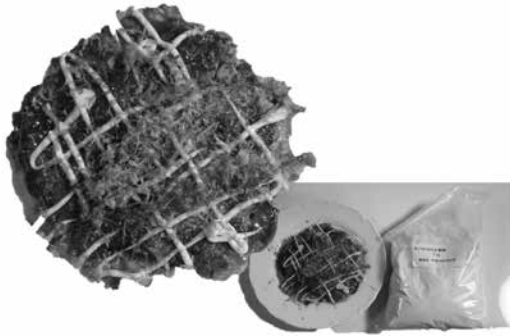


図3 はだか麦粉を用いて製造した関西風お好み焼き

で加え、両面を焼いた後、図3のようにお好み焼きソース、マヨネーズ、かつお節を適量に加えた。小麦粉の場合と比べてはだか麦粉で作ると、色が少し濃くなるが卵やだしを入れると消え、モチモチ感があり粉っぽくなく、ふわふわとろとろ感であった。焼いた後、冷して冷凍保存が可能で、電子レンジで5分間くらいで解凍加熱できた。はだか麦粉には、図1に示したように、水溶性食物繊維に加えて、不溶性食物繊維も他の食材に劣らず多く含まれており、大腸での便容積を増大させ、排便を促進するようで、便通の改善も期待できる。

4. その他はだか麦粉を用いた食品

はだか麦粉（はったい粉）を使った食品商品として、パンケーキ、クルミ入り餅、ダックワーズなども試作しており、サクサク感があり、食物繊維の効果を強調したヘルシーな商品として販売を目指している。

5. その他のもち麦粉を利用した製品

もち麦粉を利用して、既に商品化されているものをご紹介します。小麦粉にもち麦粉をブレンドして製麺した後、乾燥麺の状態の「もちむぎ麺」や「もちむぎ冷し麺」が地域特産品とし



図4 もち麦粉を用いて製造した温麺と冷麺
(株)レスパスコーポレーション ☎ 089-955-1216

て販売されている（図4）。温か麺や冷麺として調理したところ、のどごしもよく、モチモチ感があり、普通のうどんと変わらなかった。

6. 地域連携

六条大麦である「はだか麦」の生産が、愛媛県は25年連続日本一であることをご紹介した。また、はだか麦は水稲の裏作物として栽培されているが、冬期での水田の耕作は非常に限定的な状況である。愛媛県の状況に限ってご紹介するが、農林水産省統計部「水稲調査」「陸稲調査」などから作成された「愛媛農林水産統計年報」によると⁹⁾、平成22年度の愛媛県の水陸稲（陸稲は栽培されていない）の作付け面積は15,800haであり、収穫量は78,200tであった。一方、麦類、特にはだか麦について、愛媛県の作付け面積は1,610haで、収穫量は4,310tであった（表1）。作付け面積から見ると裏作としてはだか麦の栽培は水稲栽培のわずか1/10に過ぎないことが分かる。水田の冬期から春期の利用が野菜栽培等に利用されている場合もあるが、単純計算すると、両方の作付け面積の差

表1 愛媛県における平成22年度のはだか麦栽培に関する作物統計

	作付け面積 (ha)	収穫量 (t)	収穫量比 (t/ha)
水稲作付け	15,800	78,200	4.9
はだか麦作付け	1,610	4,310 A	2.7
はだか麦栽培可能地 (県全域)	14,190	38,000	2.7
はだか麦栽培可能地 (栽培地域限定)	8,700	23,500 B	2.7
耕作放棄地 (県全域)	10,400		
耕作放棄地 (栽培地域限定)	5,740	15,500 C	2.7
総計 (A+B+C)		44,000	

(大麦栽培地域:9市町村:西条市, 東温市, 松前町, 今治市, 松山市, 大洲市, 伊予市, 新居浜市, 内子町 (収穫量順))

は14,190haであり、1haあたり2.7tのはだか麦が収穫できるとすると、約38,000tのはだか麦が生産できると見積もることができる。

しかしながら、はだか麦は愛媛県全域で栽培されているわけではなく(冬期の寒さや雨量が多いなどのため)、9市町村の栽培地域で計算すると、8,700haが冬期のはだか麦栽培に利用されておらず、可能な収穫量は約23,500tとなる。平成22年度の収穫量4,310tを加えて27,810tとなり、6.5倍に増加するとなる。さらに、愛媛県の平成22年度の耕作放棄地は約10,400haあり、上記の9市町村に限定すると5,740haで、はだか麦を約15,500t生産できる。総計すると、愛媛県では約44,000tのはだか麦が生産可能であり、昭和40年初期の生産量¹⁾に相当し、平成24年度の全国の生産量(12,300t)の3.5倍になる。はだか麦の生産については、戸別所得補償によって生産者価格は高めに維持されているが、この制度の利用についても制限が多いようである。より一層の公的支援が行われない限り、上で算出した愛媛県のはだか麦生産可能量(推定量)も全く非現実的である。

農業経済学や農業経営学は専門外であるが、はだか麦の生産量の拡大について、つぎの方策を提案したい。一つ目は休耕田の借り上げの拡大である。愛媛県の多くの農家は兼業であるので、水稲の裏作を行うメリットは小さい。そのため、冬期には休耕することになるので、休耕

田を篤農家集団が借り上げて効率よく生産する方法である。現在実施されている方策であるが、さらなる展開には水田所有者と借り上げ者両方にメリットとなる方法を考案する必要がある。二つ目は指定農家生産方式とでもいう方法である。二条大麦のビール大麦は、大企業であるビール製造企業とのタイアップにより生産が維持されていると考えてよいし、トマトなど加工企業による委託生産が行われている。この方策をはだか麦の生産に適用できないであろうか。既に述べた通り、はだか麦の主な用途は、味噌、焼酎、押し麦であるが、これらの製造加工企業の多くは中小企業である。そこで、中小企業共同の半公的組織を立ち上げ、生産農家とのタイアップ生産はできないであろうか。これらのアプローチにおいても、公的な支援が少なくとも初発段階においては必須であろう。

食品・食材の安全・安心に消費者の注目が集まっている。食材の生産において効率化を求めすぎれば、生産者と消費者の信頼関係が崩れて食の安全が損なわれる可能性がある。消費者の健康・保健を考えれば、安全安心な食材の確保が重要であり、このことが、国内での安定生産に対して追い風となっている上に、地産地消の推奨、自給率の改善などのキーワードとともに、「はだか麦」や「もち麦(はだか麦の生産地域で栽培可能)」がもつ健康的効能を考えれば、特段の公的な配慮があっても良いと考えて

平成24年度 愛媛大学地域連携プロジェクト 研究成果

ギャバ(GABA)

もち麦

はだか麦

β-グルカン(食物繊維)

もち麦(上) 裸麦(下) (平成24年5月愛媛県東温市)

プロジェクトの目的

本プロジェクトは、平成19年に締結した「愛媛大学」と「東温市」との地域連携協定に基づき、東温市の特産品である「はだか麦やもち麦」の消費拡大を図るために、「南マエダ」、「愛媛県」、「東温市」、「愛媛大学」の間で産官学の情報交換を密に行い、付加価値の高い新規食品の開発・提案を通して実践的な地域連携組織を構築すること、および、得られた研究成果を広く社会に発信することを目的としています。

愛媛県は「はだか麦」の日本一の生産地です。はだか麦は、βグルカンなどの食物繊維が豊富な食材であり、その変種「もち麦」は、独特の「モチ性」の食感や、葉の天然色素・抗酸化剤アントシアニンを持っています。私たちは、もち麦粒や、はだか麦ヌカ、もち麦ヌカを使って、グルタミン酸から多機能性アミノ酸「γアミノ酪酸（ギャバ）」を効率よく製造する技術を開発しました。

本冊子では、ギャバに関する情報や、ギャバを含む商品をご紹介します。加えて、生産量全国1位のはだか麦を使った製品をご紹介します。

皆様には、健康維持のために、食物繊維β-グルカンをたくさん含んでいる「はだか麦」や、マルチな機能をもつ「ギャバ」をたくさん摂取していただきたいと考えます。

愛媛県地産品はだか麦およびもち麦を用いた食品加工技術による
農商工地域連携の推進

図5 平成24年度愛媛大学地域連携プロジェクト成果リーフレット

いる。

我々の地域連携プロジェクトグループは、愛媛県内での「はだか麦」と「もち麦」の利用の拡大のために、六条大麦がもつ機能性について強調した商品の開発を行ってきた。しかし、今回ご紹介した機能性、例えば、「ギャバ」の血圧上昇抑制効果、「βグルカン」の血中コレステロール低下効果などが、広く消費者に周知されているとは言い難い。「学」からの宣伝不足

であろうが、薬事法や食品衛生法の関係から、これらの効能をアピールし難いのが正直な気持ちである。とはいえ、平成24年度では「ギャバ(GABA) もち麦 はだか麦 β-グルカン(食物繊維)」と題したリーフレットを作成して、関係者に配布した(図5)。平成25年度は、地域連携プロジェクトグループを拡大するとともに、はだか麦粉やギャバもち麦粉を用いた食品コンテストなどを行い、今回ご紹介した六条大

麦の機能性やギャバの機能性についてさらなる広報活動を展開していきたいと考えている。

まとめ

愛媛県は、はだか麦の生産が25年連続日本一を継続している。はだか麦は、麦味噌、麦焼酎、麦ごはんなどに加工されて消費されているが、水稻の裏作として冬期から春期にかけて栽培されている。需要量が供給量を上回っている状態であるにもかかわらず、生産価格が低いいため兼業農家にとっては魅力のない作物となっている。しかし、食物繊維のβグルカンが多いこと、もち麦ではギャバが効率よく生産できること、抗酸化物質のアントシアニンが含まれることから、六条大麦である「はだか麦」や「もち麦」は注目されている健康食材なのである。

ギャバを含むもち麦粉やβグルカンを多く含むはだか麦粉を使って、いろいろな商品を製造できることを二回にわたってご紹介した。いろいろな種類の食品を開発することでこれらの

機能性物質を無理なく摂取できるようになると推察するが、残念ながら愛媛県でもはだか麦やもち麦の生産量が減少している状況である。

このような状況を打破することを目指して、はだか麦やもち麦のもつ機能を、生産者、加工企業、消費者に広く理解していただくためリーフレットを作成した（残部があるので必要な方はご連絡いただきたい）。産官学の地域連携活動をより一層進展させることで、はだか麦（もち麦）の生産拡大と、消費者の健康増進に貢献いたしたいと考えている。

謝辞 本稿でご紹介した地域連携プロジェクトは次のメンバーのご協力のもとに実施した。愛媛大学教育学生支援機構垣原登志子先生、(株)マエダ前田耕作社長、愛媛県産業技術研究所大野一仁氏、東温市ふるさと交流館近藤照雄総支配人のご協力をいただいたので、ここにご紹介する。

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

- 1) 渡部保夫：愛媛県産六条大麦「はだか麦」の利用拡大のための地域連携（その1）。*New Food Industry* (in press).
- 2) 文部科学省：五訂増補食品標準成分表。http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031802.htm
- 3) 青山頼孝：食物繊維の生物機能，現代の食品化学第2版，並木満夫ら共編，三共出版，pp.206-212（2007）。
- 4) 渡部保夫：もち麦を用いたγアミノ酪酸の高生産技術（その1）。*New Food Industry*, **54**(6) 27-34 (2012)。
- 5) Behall, K.M., Scholfield, D.J., Hallfrisch, J.: Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am J. Clin Nutr* **80**, 1185-1193 (2004).
- 6) Tiwari, U., Cummins, E.: Meta-analysis of the effect of β-glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. *Nutrition*, **27**, 1008-1016 (2011).
- 7) Rondanelli, M., Opizzi, A., Monteferrario, F., Klersy, C., Cazzola, R., Cestaro, B.: Beta-glucan- or rice bran-enriched foods: a comparative crossover clinical trial on lipidic pattern in mildly hypercholesterolemic men. *Eur. J. Clin Nutr*, **65**, 864-871 (2011).
- 8) (株)マエダ，愛媛県，特願 2011-126633。
- 9) 中四国農政局。http://www.maff.go.jp/chushi/kohoshi/kankoubutu/38ehime/23_nenpo.html

食品科学研究におけるイメージング技術

秋山 美展 (AKIYAMA Yoshinobu) *

* 秋田県立大学 生物資源科学部

Key Words：非破壊検査・可視化技術・測定・温度・活性酸素・官能評価・嗜好性・脳血流・脳波

はじめに

イメージング（可視化，画像化）技術は，近年の産業界や科学技術分野において急速に発展した技術のひとつであろう。これは計測技術や装置の急速な発展もさることながら，大量のデータを高速に処理可能なコンピュータの普及によるところが大である。イメージング技術の研究開発と実用化が最も進んでいるのは医療分野であろう。古くはレントゲンによるエックス線の発見に端を発し，MRI（核磁気共鳴画像法），SPECT（単一光子放射断層撮影）NIR（近赤外）イメージング法等が医療や診断の現場で活用されている。

食品産業分野におけるイメージング技術は，赤外線サーモグラフィによる食品表面温度の可視化や製造工程管理等をはじめ，軟エックス線による異物検出などが実用化されている。食の安全性や信頼性を損ねるような事件や事故が増加しており，原料生産から製造，流通に至る一連のフードシステムはよりいっそうの安全性と信頼性を築いていかなければならない状況にある。一方では食の生理機能が注目を集めており，関連する研究報告は膨大な数に上っている。食の生理機能性およびその関連物質の研究は *in vitro*（機器分析）実験から動物実験を経て，ヒ

トにおける有効性検証が求められる時代になってきた。そのため探索的な *in vitro* 実験はより一層の省労力，省コストが求められる。本稿で紹介する XYZ 系活性酸素消去発光分析法（以下 XYZ 法）は微弱化学発光によって活性酸素種およびその消去物質の検出と活性測定を迅速かつ簡易に行う方法であり，*in vitro* 実験において大きな力を発揮する。微弱化学発光とは，有機物が活性酸素等によって酸化される際に発する極微弱発光である。波長は可視光の領域であるが極めて微弱な光であるため，光電子倍增管や超高感度 CCD カメラの開発によってはじめて定量的に計測することが可能となった。

近年は，成分分布や内部構造を非破壊的に可視化するための技術の進展が著しい。食品表面の温度分布は前述のサーモカメラ（赤外線カメラ）等によってイメージングは容易におこなえるが，内部温度測定となると，熱電対等による点データに依存せざるを得ない状況にある。筆者らは，感温液晶を用いて食品内部の温度分布をイメージングする手法を開発した。本稿では，食品科学研究におけるイメージング技術の開発と応用例について紹介する。

1. 微弱化学発光法による活性酸素消去成分の検出・定量・イメージング

微弱化学発光とは、有機物が活性酸素等によって酸化される際に発する極微弱発光である。波長は可視光の領域であるが極めて微弱な光であるため、光電子倍增管や超高感度 CCD カメラの開発によって始めて定量的に計測することが可能となった。がんや生活習慣病の多くはわれわれの体内で生産される活性酸素が十分に消去できなくなった時に発症する可能性の high が明らかになってきており、食品に含まれる活性酸素消去物質の探索や機能解析に関する研究が活発になされている。食品中の抗酸化物質の探索とその機能解析が進められた結果、活性酸素やラジカル物質が食品や生細胞の酸化に関わるより直接的な物質であることが明らかになってきている。その意味において、活性酸素種の特異的測定、さらにそれら活性酸素種を消去する物質の探索は食の生理機能性評価の際の重要な課題である。

1-1. XYZ 法のメカニズム

XYZ 法は大久保らを中心とした研究グループによって開発された活性酸素およびその消去に関わる成分の新しい検出・定量法である¹⁻³⁾。一般に生化学や医学分野で活性酸素を論じる際には、一重項酸素、過酸化水素、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドの4種をさして活性酸素種ということが多い。生体内ではこのうち過酸化水素、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドが重要である。図1に分子状酸素(三重項酸素)が4電子を受け取って水に還元される概念図を示す。この過程で前述した3種の活性酸素種が生成される。ヒドロキシルラジカルとスーパーオキシドはラジカルでもあるため、実験的取り扱いが難しく検出、定量には ESR (電子スピン共鳴) 装置を必要とする。過

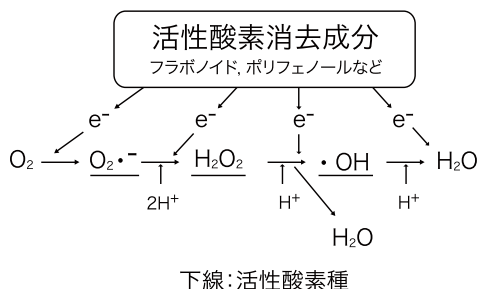
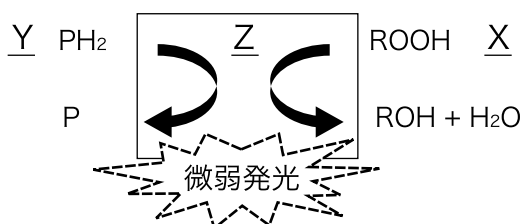


図1 活性酸素の発生とその消去メカニズム(概念図)

呼吸のプロセスにおいて3種の有害な活性酸素が生成するが、ポリフェノール等の活性酸素消去成分から4電子を受け取ると無害な水に還元される。

酸化水素は比較的安定であり、試薬として入手も容易であるため活性酸素種の代表的物質として多用される。XYZ 法においても活性酸素種として過酸化水素を使用する。

図2にXYZ法の概念を示す。活性酸素種(X), その消去物質(Y), 反応メディエータ(Z)からなる化学微弱発光系である。消去物質の電子がメディエータの存在下で過酸化水素より生じたヒドロキシルラジカルを還元する際に発生する微弱発光を高感度 CCD カメラまたは光子検出器によって捉えることによって検出・定量を行う。いま、ある試料に X 試薬と Z 試薬を添加した際に発光が観察されればその試料には何らかの活性酸素消去物質が含まれていることになる。また、Y 試薬(没食子酸が多用され



- 活性酸素種 (X) : 196mM 過酸化水素
- 水素供与体 (Y) : 試料中の活性酸素消去成分
- 反応メディエータ (Z) : KHCO₃ 飽和 360mM アセトアルデヒド
- 微弱発光測定 : 東北電子産業(株) CLD 110
浜松ホトニクス(株) 高感度 CCD カメラ

図2 XYZ 活性酸素消去発光分析法



図3 活性酸素消去成分の分布イメージング

左：バナナ 中央：レンコン 白色部分に高濃度に分布している。
右：ウェルプレートを使用した多点試料の迅速計測（最大96試料/10分）

る）とZ試薬を添加した際に発光が観察されればその試料にはX成分（すなわち活性酸素種）が含まれることがわかる。一定条件下では微弱発光強度はX, Y, Z三者の濃度積に比例することが明らかにされているため、既知濃度のX, ZまたはY, Z試薬を用いることにより試料の活性酸素消去活性または活性酸素活性を知ることができる。

1-2. XYZ法の実用例

図3にXYZ法によって撮影された活性酸素消去成分の分布を可視化した例を示す。

図3の左はバナナの縦断面および横断面における活性酸素消去成分の分布、中央はレンコンの横断面における分布像である。活性酸素消去成分の濃度は画像の濃淡により表されている（白色度が高い程高濃度）。96穴のウェルプレートを用いれば、96点の試料の活性酸素消去能をわずか10分で計測することも可能である。

2. 感温液晶を用いた食品内部温度の可視化

食品の加工工程における温度の管理は極めて基本かつ重要な作業である。しかしながら食品内部における温度分布の経時変化を観察・記録する技術はこれまでに開発されてこなかった。われわれは、温度によって可逆的に色調が変化する感温液晶を使って食品内部の温度変化を画像として観察・記録する方法を開発した。この

方法は内部発熱を伴うような食品の温度分布変化もリアルタイムで観察することができる。

2-1. 感温液晶とは何か

感温液晶とは、簡単に言えば温度によって色が可逆的に変化する液晶である。液晶は分子構造によって大きく3種類に分けられる。一般的に液晶を構成する分子は細長い棒状構造をしているが、この棒状構造によってネマティック液晶、スメクティック液晶、コレステリック液晶に分類されている。ネマティック液晶は分子がおおよそ一定方向を向く性質を有する液晶で現在実用化されている液晶ディスプレイはほとんどがこの液晶を使用している。スメクティック液晶は分子群が同じ方向を向き、更に層状に並ぶタイプの液晶である。コレステリック液晶はネマティック液晶の特性の他に、らせん構造（カイラル構造）を有しており、このらせん構造のピッチ（らせん1回転分の距離）は温度によって変化する。らせん構造のピッチ変化域を可視光の波長域にほぼ等しくすると、液晶に入射した可視光はブラッグ反射と同様な回折現象を生じ、散乱された反射光は特定の色彩を呈することになる。すなわち、感温液晶の呈する色調から温度を知ることができるのである。感温液晶の温度応答性は極めて速く連続的であるため温度分布変化をリアルタイムで連続的に観察することができる。本稿で紹介する感温液晶の温度指示範囲と分解能を表1に示す。液晶の温度指

表1 水分散用カイラルネマティック液晶の温度指示域と分解能⁴⁾

温度 [°C]	25.1 以下	25.2-26.4	26.5-27.6	27.7-28.7	28.8-30.4	30.5 以上
観察色	無色	赤	緑	青緑	青	青紫

表2 可視化実験用感温液晶カプセル⁴⁾

項目	液晶の種類	性状	カプセル材料	カプセル粒径	指示可能温度域
シリコンオイル分散用	コレステリック	粉体	ゼラチン	20-30 μ	-10 ~ +60 °C
	カイラルネマティック	粉体	ゼラチン	20-30 μ	-20 ~ +100°C
水分散用	カイラルネマティック	スラリー	尿素樹脂	20-30 μ	-10 ~ +49 °C +50 ~ +100°C
スプレー用	コレステリック	液体	ゼラチン	20 μ	-10 ~ +60 °C
	カイラルネマティック	液体	ゼラチン	15 μ	-20 ~ +49 °C +50 ~ +100°C
平面熱板用	コレステリック	シート状	ゼラチン	20 μ	-10 ~ +60 °C
	カイラルネマティック	シート状	ゼラチン	15 μ	-20 ~ +49 °C +50 ~ +100°C
水槽浸漬用	コレステリック	シート状	ゼラチン	20 μ	-10 ~ +60 °C
	カイラルネマティック	シート状	ゼラチン	15 μ	-20 ~ +49 °C +50 ~ +100°C

示範囲は目的に応じて -20°C から 100°C の間で設定が可能である。現在入手可能な感温液晶の一覧を表2に示す。われわれの可視化法では、カイラルネマティック液晶を粒径 20-30 μm 程度の尿素樹脂製マイクロカプセルに封入し、水系分散媒に均一に懸濁するよう比重は 1 に調整してある。

2-2. 内部温度可視化法

伝熱による熱移動に関する理論や実験データに関しては膨大な報告がある。近年はコンピュータの高性能化によって有限要素法等による温度分布シミュレーションも比較的容易に行えるようになってきた。しかしながら、食品内部における温度分布を非破壊的にリアルタイムで観察する手法はこれまで実用化されていない。われわれは食品に電流を流して食品を加熱する技術（ジュール加熱、オーミックヒーティングまたは通電加熱と呼ばれる）についてその実用化研究を進めているが、ジュール加熱技術の高性能化を進めるためには食品内部温度の変化をリアルタイムで知ることが重要であると考

えている。一般に食品は形状や構造が不規則かつ不連続であるためその温度上昇速度や熱移動速度が一樣ではなく、内部温度分布の推定が難しい。この課題を解決する手段として非破壊的に内部温度分布を観察する手法として感温液晶による内部温度可視化法を開発した^{5,6)}。

図4に温度可視化のための観察システムを示す。ガラス容器の中には疑似食品としてジェランガムなどで作製した透明ゲルが入っており、マイクロカプセル化した感温液晶がゲルに懸濁されている。ゲル内部の観察したい部分にスリット光を落射させ、スリット光と直角方向に設置したビデオカメラなどで画像記録をするシステムである。スリット光の落射位置を移動すれば任意の場所の内部温度分布を観察できるようになっている。

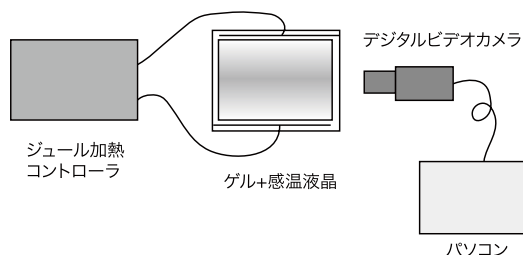
2-3. 内部温度分布の観察

図5は伝熱による温度分布変化の可視化例である。約 8 × 8 × 10 cm の直方体の冷却されたジェランガムゲルが室温におかれた際の温度分布変化を観察することができる。この実験例で



図4 感温液晶を用いた内部温度分布のリアルタイム観察システム

発熱解析実験装置の構成(上面図)



は伝導伝熱のみを観察するために温度差による対流を抑制する目的でゲル化剤を添加しているが、ゲル化剤を添加しなければ対流による熱移動を観察することもできる。疑似食品として使用した透明ゲルの熱伝導率や比熱を実際に測定したい食品に近似させることで食品内部における温度分布を精度よく推定することができるようになった。

図5は観察対象であるモデル食品が均一相であるが、大半の食品材料は熱物性や理化学特性の異なる複数の成分からなる不均一相である。このような異種成分が混在する系における熱伝導の予測は極めて困難である。われわれは、このような物性値や形状の異なる複数の材料が混在する系における熱移動をシミュレートする手がかりを得るためには、感温液晶を用いる本法が有効であると考えている。

2-4. ジュール加熱における発熱挙動の解析

ジュール加熱は食品材料に直接電流を通じて、その電気抵抗により自己発熱させる加熱法である。熱源を外部に求める伝熱加熱と異なり、温度制御精度が高い、昇温速度の制御が容易、過加熱の弊害がないなどの利点を挙げることができる。しかしながら、食品材料の電気伝導率や形状によって発熱挙動が大きく変化するため、加熱対象の熱物性や形状効果をよく把握しておく必要がある。感温液晶を用いた本法を用いれば、内部温度変化を非破壊的に、かつ連

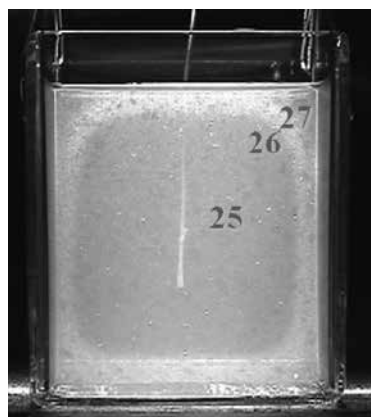


図5 内部温度変化の可視化例

図中の数字は温度(°C)。

約8×8×10cmの直方体の冷却されたジェランガムゲルが室温におかれた際の温度分布変化を観察することができる。

続的に観察できるためジュール発熱解析には極めて有効な手段となる。

理化学特性の異なる複数成分が混在する系を想定して、電気伝導率の異なる2種のジェランガムゲルを様々な組み合わせでジュール発熱させた際の内部温度分布を図6から図7に示す。図6の上段は電気伝導率の異なるゲルを2層構造にしたもので、電気的には直列配置とした場合の温度分布観察画像である。図6の下段はその有限要素法によるシミュレーション図である。同様に、図7に並列配置、図8に直列と並列の混合配置を示す。実験に使用したガラス容器、ジェランガムゲル、ジュール発熱用

2成分直列配置モデルの内部温度変化とシミュレーション

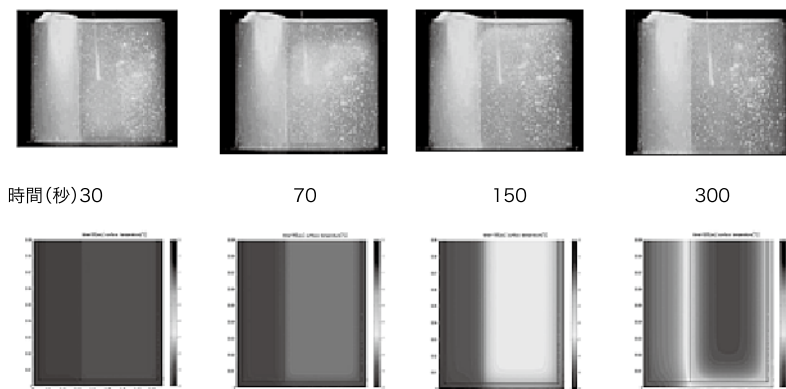


図6 複合材料が電氣的に直列配置された場合のジュール加熱による内部発熱のイメージング（上段）と有限要素法による温度分布シミュレーション（下段）

2成分並列配置モデルの内部温度変化とシミュレーション

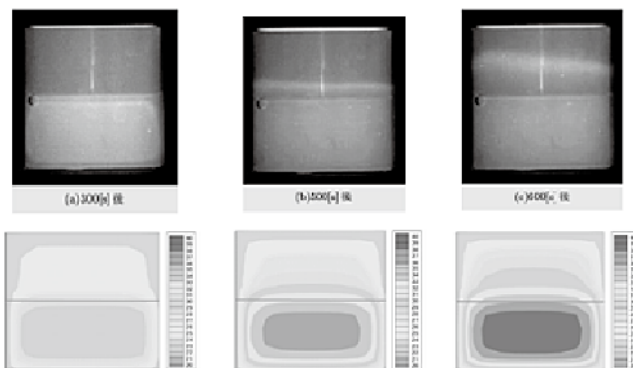


図7 複合材料が電氣的に並列配置された場合のジュール加熱による内部発熱のイメージング（上段）と有限要素法による温度分布シミュレーション（下段）

2成分直列+並列混成配置モデルの内部温度変化とシミュレーション

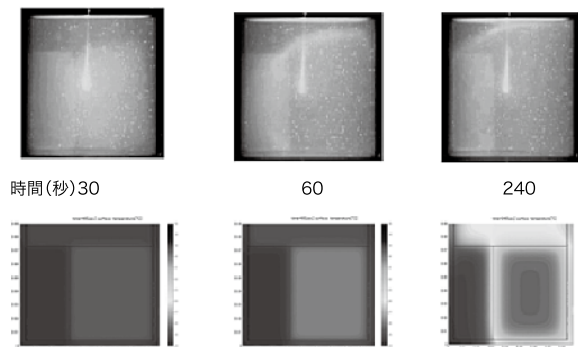


図8 複合材料が電氣的に直列+並列配置された場合のジュール加熱による内部発熱のイメージング（上段）と有限要素法による温度分布シミュレーション（下段）

チタン電極の比熱や熱伝導率などの物性値を用いて、有限要素法および差分値解析法を用いてシミュレートした温度分布図は、直列並列混合モデルで部分的にやや相違が認められるものの、ほぼ観察結果と同様のシミュレーション画像を得ることができた⁷⁻¹⁰⁾。

3. 脳波や脳血流の非侵襲計測による食品評価の試み

食品の味、香り、食感、好み等を評価する手法には種々あるが、基本的には被験者の感じた感覚を言葉や数値尺度で記述させ、それらデータを統計的に解析し順位や嗜好度などを決定している。これらの方法は官能評価法または嗜好調査法と呼ばれており、比較的簡単に実施することができるが信頼性のある結果を得るためには一定の訓練を受けた人を被験者として実施する必要がある。しかしながら、高齢者では一般に味覚や嗅覚の鈍化がみられ咀嚼嚥下能も低下してくるため、前述したいわゆる標準法で評価された食品の味や食感、好みなどが高齢者にとって最適のものである保証はない。高齢者にもっとも受容性が高く、かつ満足度の高い食品を開発するためには、実際に高齢者に食品を食べてもらい、その際にどのような感覚刺激を受けているかを評価する新たな手法の開発が必要である。本稿では、従来の食品の嗜好調査や官能評価手法に替わる、より正確かつ直接的な評価手法として、脳波や脳血流計測による食品評価法について述べる。

脳血流の非侵襲計測によって大脳の活動部位を観察できるようになり様々な分野における実用化が急がれている。

3-1. 脳波計測

脳はその活動にともなって常に微弱な電波を出し続けており、頭皮表面におけるわずかな電位差として計測することができる。脳波計測お

よびその解析技術は脳神経医療の分野ではすでに確立されたものであるが、食の評価法としての研究は緒についたばかりである。

筆者らは食品のおいしさを定量的に評価する手法として脳波や脳血流計測による手法の開発に取り組んでいる。ここではその研究成果の一部を紹介する。

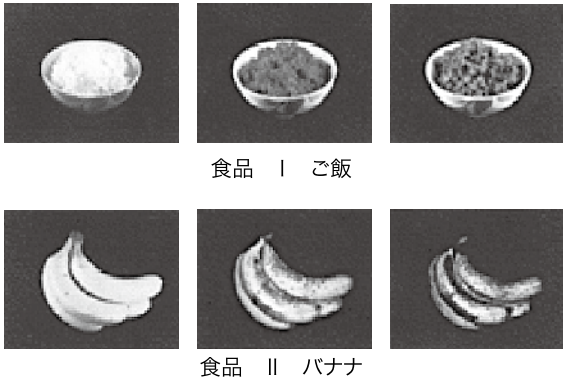
田中ら^{11,12)}は、心理的な活動に依存する脳波成分である事象関連電位（以下 ERP：event-related potential）に着目し、様々な食品画像を提示した時の ERP 計測を行い、評価によって P300（認知・判断に関係する ERP 成分）の振幅が異なることを報告している（図 9）。

脳波計測による食品評価手法はまだ研究途上であるが、事象関連電位 P300 は新たな食品評価法を構築するうえで有効なキースペクトルになりうるものと考えられる。

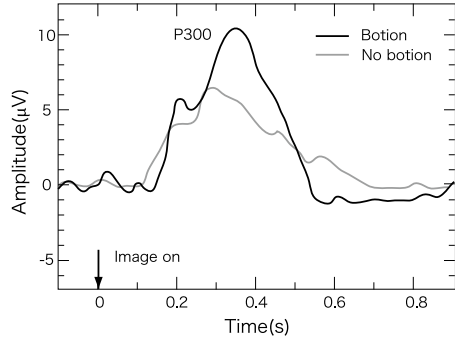
3-2. 脳血流計測

本稿の冒頭で述べたように、医療分野におけるイメージング技術の発達は目覚ましいものがあり、脳機能科学分野の研究においても重要な手法となっている。NIRS（Near Infra-Red Spectroscopy）は最近開発された近赤外光を用いた脳機能計測法である。われわれの脳が様々な情報処理を行うときには、脳神経活動に伴ってその周囲にある血管が拡張し、酸素やグルコースを含む動脈血が供給される。その結果、活発に活動する脳の部位では、血流量が増大し、血液の酸化状態（オキシヘモグロビン濃度 [oxy-Hb] とデオキシヘモグロビン濃度 [deoxy-Hb] の比率）が変化すると考えられている。近赤外光は頭蓋骨を透過できるため、非侵襲的に大脳皮質付近の血流変化をイメージングすることができるのである（図 10, 11）。熊谷ら¹⁰⁾は、食品の外観嗜好評価時における前頭前野の局所脳血流動態を NIRS によって調べ、被験者の嗜好判断を予測できる可能性を示している。中高齢者

食品の色に対する視覚刺激が与えるおいしさへの影響
事象関連電位のP300成分に着目して評価



秋田大学工学資源学部 井上・田中研究室
秋田県総合食品研究所 秋田県立大学

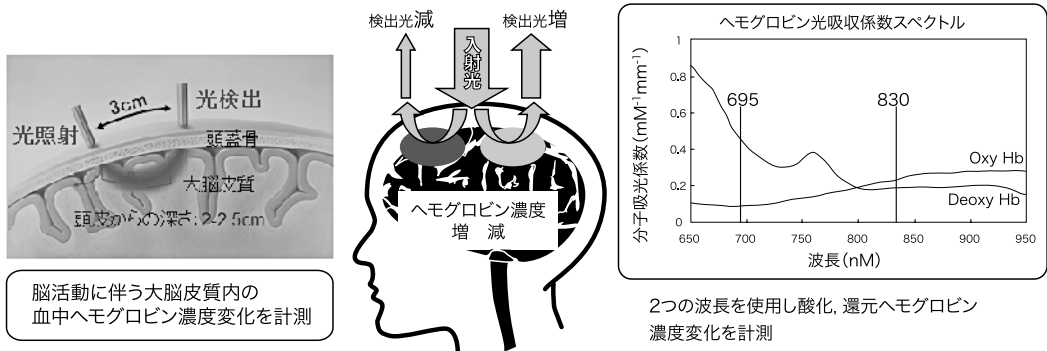


食品 I, 食品 II ともに,
P300の振幅に有意差あり

P300は認知・判断に関連する成分であるため,
新たな食品評価法構築の基礎データとなる

図9 食品の見た目のおいしさを脳波ではかる

光による脳機能計測原理(ヘモグロビン計測)



(注)ヘモグロビンは光を吸収するため、脳血量(ヘモグロビン濃度)の増減と検出光の増減は反比例の傾向を示します。

図10 近赤外光による大脳皮質内血流のイメージング

資料：(株)日立メディコ

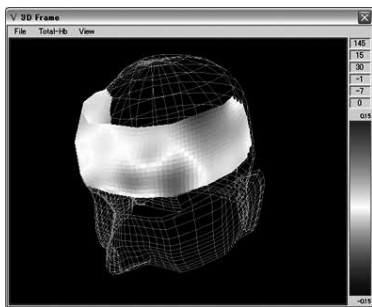


図11 脳血流のイメージング例。咀嚼行動に伴う脳血流変化の非侵襲的観察。

資料：(株)日立メディコ

7名を対象としてケーキの画像を提示し、被験者が”おいしそう”と感じたときとそうでないときのOxy-HbとDeoxy-Hbの変化量に有意差を認めている。

脳波計測や脳血流計測による食品の評価手法はまだ実用化段階には達しておらず、今後の更なるデータ蓄積が必要であるが、近い将来には個人の嗜好やおいしさの感じ方を個別につ正確に評価できるようになるものと期待される。

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

- 1) Y. Yoshiki, K. Okubo, M. Onuma and K. Igarashi, Chemiluminescence of benzoic and cinnamic acid flavonoids in the presence of aldehyde and hydrogen peroxide or hydroxyl radical by Fenton reaction, *Phytochemistry*, **39** (1), 225-229, 1995,
- 2) Y. Yoshiki, K. Okubo and K. Igarashi, Chemiluminescence of anthocyanins in the presence of aldehyde and tert-butyl hydroperoxide, *J. Biolumin. Chemilumin.*, **10**, 335-338, 1995.
- 3) Y. Yoshiki, K. Igarashi, K. Yotsuhashi and K. Okubo, Chemiluminescence mechanism of catechis in the presence of active oxygen, *J. Biolumin. Chemilumin.*, **11**, 131-136, 1996.
- 4) 株式会社日本カプセルプロダクツ社資料
- 5) 伊藤博樹, 秋田大学大学院工学資源学研究科修士論文, 2006.
- 6) 三保茂之, 秋田大学大学院工学資源学研究科修士論文, 2004.
- 7) 高橋英沙子, 長縄明大, 秋山美展, ジュール加熱食品加工における発熱解析, 平成 17 年電気学会全国大会要旨集, 2005.
- 8) 秋山美展, ジュール加熱の基礎と展望, 2005 年日本食品工学会シンポジウム講演要旨集, 2005.
- 9) 秋山美展, 長縄明大, ジュール加熱による食品の効率的加熱法の開発と発熱および熱移動解析, 平成 17 年 FOOMA 研究助成研究成果報告書, 2005.
- 10) 秋山美展, 三保茂之, 伊藤博基, 高橋英沙子, 長縄明大, 足立高弘, 大久長範, 伊藤義文, ジュール発熱における材料の電気特性と発熱の解析, 2004 年日本食品工学会講演要旨集, 2004.
- 11) 田中元志, 本間智大, 中島恵子, 井上浩, 新山喜嗣, 高橋徹, 熊谷昌則, 秋山美展, 食品画像提示による好み評価時の事象関連電位計測, 電子情報通信学会報, NC2009-52
- 12) 田中元志, 本間智大, 井上浩, 新山喜嗣, 高橋徹, 熊谷昌則, 秋山美展, 瓶を例とした食品の外観の好み評価時の ERP 計測, 電気学会誌 C, Vol.131 No.6, pp1271-1272, 2011.
- 13) 熊谷昌則, 渡部素子, 菅原千秋, 高橋徹, 秋山美展, 食品の外観嗜好評価時の前頭前野局所脳血流動態の解析, 秋田県総合食品研究センター報告, Vol.12, 1-6, 2010.

歴史の潮流と科学的評価

(第2節 ベジタリアン食と慢性疾患予防)

ジョアン・サバテ (Joan Sabate) *1 訳：山路 明俊 (Akitoshi Yamaji) *2

*1 ロマリンダ大学栄養学部, *2 食のフロンティア塾

Key Words：冠状動脈疾患，リスク因子，コレステロール，ベジタリアン食，死亡率，疫学

3章 ベジタリアニズム，冠状動脈リスク因子と冠状動脈心疾患

はじめに

冠状動脈心疾患 (CHD) は、ほとんどの欧米諸国での主要な死因で、発展途上国でも、急速に主要な死因になりつつあります。ロペス (Lopez) とマレイ (Murray) ¹⁾ は、2020年までに、CHD は世界的に疾病の主因になるだろうと予測しています。集団によって異なる食事は、CHD 死亡率の変化となって観察され、ベジタリアン食の CHD への効果は大きな関心事となっています。

ベジタリアン食は、何が含んでいないかで規定され、食品と栄養素は幅広く変化します。裕福な欧米のベジタリアン食と、貧しい発展途上国のベジタリアン食とは大きな違いがあります。欧米の中でさえも、ベジタリアン食は動物性食品を避ける程度でかなり異なり、倫理や健康上の理由に従うのかによって異なっています。この観点から、ベジタリアン食の健康効果の論議は、実際のベジタリアン食のタイプと、また、対照となる、同程度の重要性を持つ非ベジタリ

アン群の食事様式を考慮に入れなければなりません。この章では、ベジタリアンと同様な背景を持つ非ベジタリアンを比較した研究に絞込みます。特に但し書きがない場合、対象はラクト・オボベジタリアンを意味します。というのは、ビーガンについては、データがあまりありません。

第2節では、CHD のリスク因子として立証されているものや考えられるものについて触れ、ベジタリアン食と他の関係について解説します。喫煙のような日常のリスク因子は、食事由来でなく、ベジタリアンと非ベジタリアン間で異なる CHD 率を生じさせる潜在的交絡因子として考慮しなくてはなりません。これらの因子を補正するのに統計的な解析は重要です。反対に、果物と野菜の摂取や BMI のような因子は、ベジタリアン食の構成要素であり、また、食事により強く決定付けられます。これらの因子は交絡因子でなく、一般的に、統計的解析の中で補正することは不適當です。

第3節では、ベジタリアンの CHD の疫学研究と、CHD の2次予防としての低脂肪ベジタリアン食の利用について解説します。追加研究

が必要な話題は第4節で、結論は第5節で紹介いたします。

1. ベジタリアニズムと冠状動脈リスク因子

A. 立証されたリスク因子

1. 脂質とリポたんぱく

血漿総コレステロール値は、CHDに対する最も重要な生化学的リスク因子です。血漿総コレステロールとCHDによる死亡リスク間には、ほぼ直線的な関係が見られます。研究の殆どは、血漿コレステロールの単一な測定に基づき個人を分けていたために、この関係の強さを過小評価してきており、通常、長期間のコレステロール値とわずかに関連しているだけなのです。「回帰希釈バイアス」によるこの過小評価への補正は、血漿コレステロールとCHDとの関係の強さを増加させます。ローらは²⁾、中年男性では、血漿総コレステロールが0.6 mmol/l低下すると、CHDによる死亡率は24%低下すると推定しました。影響は若ければ若い程、より大きくなります。血漿総コレステロールが、0.6 mmol/l低下すると、CHD発生は40歳代で54%、50歳代で39%、60歳代で27%、そして80歳代で19%低下すると推定されました³⁾。重要なことは、血漿総コレステロール値とCHDの関係は、血漿コレステロール値が平均的に高い欧米の人々だけでなく、低コレステロール値の標準的な人々の間でも見られるということです。このことは、コレステロールの低下は、殆どの人々で、CHDを低下させることを示唆しています。

血漿総コレステロールとCHD死亡率との関係は、低比重リポたんぱく(LDL)に大きく影響され、欧米では共通して総血漿コレステロールの4/5を示しています。CHD死亡率とLDLコレステロールの関係は、総コレステロールとの関係より強く、ローらは、LDLコレステロールの0.6 mmol/l低下は、CHDによる死亡率を27%低下させると推定しました²⁾。

総コレステロールの他の主要な組成は、CHDリスクと反比例する高比重リポたんぱく(HDL)です⁵⁾。従って、血漿脂質とCHDリスクに対するベジタリアン食の影響を議論する際には、LDLとHDLコレステロールを共に考慮することは重要です。

ハーディング(Hardinge)とステア(Stare)⁶⁾の先駆的業績以来、ベジタリアンは非ベジタリアンと比べ、より低い総血漿コレステロール値を持つことが多くの研究により立証されてきました。英国のオックスフォード・ベジタリアン研究に参加した3,277人のデータは、肉食者に比べ、ベジタリアンは、総コレステロールが平均して0.43 mmol/l低いことを示しました⁷⁾。この違いは、もっぱらLDLコレステロールの違いによるもので、表3-1がそれを示しています。ビーガンでは、総コレステロールは肉食者に比べ、1.02 mmol/l低く、多くはLDLコレステロールの0.89 mmol/lの違いによるものです。この集団での総コレステロールを決める主要な食事因子は、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸とコレステロールの摂取から計算されたキース(Keys)式⁸⁾で表される脂質摂取量です⁹⁾。

表3-1 ベジタリアンと非ベジタリアンの血漿脂質濃度(年齢と性別を補正)

食事	人数	総コレステロール (mmol/l)		LDL- コレステロール (mmol/l)		HDL- コレステロール (mmol/l)	
		平均	標準誤差	平均	標準誤差	平均	標準誤差
肉食者	1198	5.31	0.101	3.17	0.091	1.49	0.035
ベジタリアン	1550	4.88	0.100	2.74	0.090	1.50	0.035
非ベジタリアン	114	4.29	0.140	2.28	0.126	1.49	0.048

ベジタリアンの比較的低い血漿総コレステロールは、米国のセブンスデー・アドベンチストの白人^{10,11)}、米国の共同生活のビーガン¹²⁾、米国のマクロビオティックベジタリアン¹³⁾、英国のベジタリアン^{14,15)}、中国のベジタリアンの高齢者¹⁶⁾、スロバキアのベジタリアン¹⁷⁾、西アフリカのセブンスデー・アドベンチスト¹⁸⁾、シベリアのビーガン¹⁹⁾、ドイツのベジタリアン²⁰⁾、そして他の人々²¹⁾を含む、異なる集団で見られてきました。さらには、ベジタリアン食に変えると血漿総コレステロール値を低下させることができることを介入研究が示してきました^{21,22)}。しかし、ロンドン²³⁾に住むインドから来たアジア人や、米国に住むインド人²⁴⁾の医者の間では、ベジタリアン食は血漿コレステロール値と有意に相関していませんでした。

ベジタリアン食のHDLコレステロール値への影響はあまり明らかではありません。オックスフォード・ベジタリアン研究は、HDL値はビーガン、ベジタリアンや肉食者で同じであることを示しています。(表3-1)また、この集団でのHDLコレステロールを決める主要な食事因子はアルコールの摂取でした^{9,25)}。対照的に、多くがベジタリアンであるセブンスデー・アドベンチストのHDLコレステロールは、近隣の人に比べ低く、また、HDLコレステロールの全体に対する比率は2つのグループでは殆ど同じであったと、フレイザー (Fraser)¹¹⁾は報告しました。総脂肪を炭水化物複合物で置き換えると、HDLコレステロールを低下させ²⁶⁾、また、英国のベジタリアンは低脂肪食でないために、非ベジタリアンよりHDLコレステロールは低くないようです⁹⁾。セブンスデー・アドベンチストの比較的低いHDLコレステロール値は、アルコールの節制によるのかもしれませんが。というのは、アルコールは、HDLコレステロールを上昇させます¹¹⁾。

冠動脈リスクに関して、ベジタリアンの脂

質データは、総コレステロール及びLDLコレステロールの点で確実に低いリスクであります。いくつかの集団では、この利点の一部はHDLコレステロールの低下によって帳消しにされるかもしれません。

HDLへの独立リスク因子とされるトリアシルグリセロールの役割は明確ではありません。というのは、HDLに対する補正は、関連性を減少させるか消滅させてしまいます。しかし、最近の前向き研究のメタ分析は、トリアシルグリセロールがCHDの独立リスク因子であることを示しました。オースチン (Austin) らは²⁷⁾HDLへの補正後、トリアシルグリセロールの1 mmol/lの増加は、冠動脈疾患リスクを男性で14%、女性で37%それぞれ上昇させることと相関することを発見しました。ベジタリアンは、肉食者より低い血漿トリアシルグリセロール値を持つと、いくつかの小規模研究は報告しています^{13,18)}が、他の研究では、ベジタリアンと非ベジタリアンとの違いは見られませんでした。

2. 高血圧

CHDは、収縮期と拡張期血圧の上昇と直線の関係があります²⁸⁾。血漿コレステロールと同様に、殆どの疫学研究は、それぞれ個人の単一の血圧測定しか利用しなかったために、影響の規模を過小評価してきました。この回帰希釈バイアスへの補正後の拡張期血圧の10 mmHgの低下はCHDリスクに影響し、37%低下しました²⁹⁾(また、脳卒中リスクも57%低下させます)。

高血圧が主要な食事に関連する決定因子は、肥満、アルコール多飲、ナトリウム多食と低カリウム食です^{30,31)}。ベジタリアンは非ベジタリアンと比べ痩せており、また、アルコール摂取も少なく、さらにカリウム摂取も多いことを、殆どの比較研究は示していますが、ベジタリアンは、低ナトリウム摂取であるかは確固たる証

拠はありません。いくつかのベジタリアン食品は、ナトリウムを多く含んでいます。多くの研究がベジタリアンと血圧との関連性を調査しました。あるベジタリアンと非ベジタリアンとの比較研究では、ベジタリアンは低い血圧とされましたが、他の研究では違いが見つかりませんでした³²⁾。血圧に対するベジタリアン食の影響を見る無作為研究は、約5 mmHgの血圧低下を示しましたが、これはナトリウム摂取の変化によるものでなく、また、カリウムのような他の栄養素の変化で説明されるようでもありませんでした³²⁾。その後の研究で、ベジタリアン食の明らかな低血圧効果が、脂肪や食物繊維のような栄養素の変化で説明ができるかどうかを立証しようとしたのですが、結果は結論に達しませんでした。

日本や中国の田舎に住む人々の一部は、セミ・ベジタリアン食で、肉や乳製品の摂取が少なく、極端に主要な植物性食品に頼っています。これらの人々は高血圧の頻度が高く、また、高い脳卒中率ですが、コレステロール値は低く、低CHD率です。高血圧の頻度の高さは、多くは高塩食によるものと思われませんが、このことは、セミ・ベジタリアン食は高血圧に対し、強い予防効果は持たないことを示しています。事実、日本のこれらの人々については、動物性たんぱく質の低い食事は高血圧のリスクを増大させるかも知れないという、いくつかの証拠があります³³⁾。

ベジタリアン食、それ自体では、高血圧の悪化に対しては強く予防するものではありません。高血圧悪化のリスクを低下させるためには、全ての食事は低塩、高カリウムで、アルコールを控え、肥満を避けなければなりません。

3. 凝血因子

重症とそれ以外の殆どの心筋梗塞は冠動脈の血栓症から起こり、CHDの長期リスクと凝血機能の様々な検査の間には関連があるとの証拠

があります³⁴⁾。CHDの増大リスクは、フィブリノゲンの血清高濃度と、おそらく、因子Ⅶの高凝固活性(因子Ⅶc)³⁶⁾を伴う、血小板の過剰作用³⁵⁾と関連性があります。

食事因子は凝血性に影響しますが、これらの関係の正確な性質は良く理解されてはいません³⁷⁾。全部ではありませんが、フィブリノゲンとⅦc因子は、非ベジタリアンよりベジタリアンの方が低いことを、いくつかの研究が報告しています³⁸⁻⁴¹⁾。しかし、メツァーノ(Mezzano)ら³⁹⁾や、リー(Li)ら⁴¹⁾は、ベジタリアンは、対照より高い血小板凝集率を有し、おそらく、血小板中の低濃度のn-3系脂肪酸によるものと報告しています。

つまり、凝血因子に関するベジタリアン食の影響は、CHDに関して重要な影響を持つかも知れないとはなかなか言えないということです。

4. 耐糖能異常とインスリン抵抗性

糖尿病の人(インスリン依存性と非依存性の両者)や耐糖能に障害のある人は、正常な人に比べ、CHDの高いリスクがあります³⁴⁾。この関連性のいくつかは、低HDLコレステロールと高血圧や肥満を伴う耐糖能の共存によるものですが、高血糖症は他のリスク因子から独立してCHDリスクを増大させます。

ベジタリアン食は、耐糖能に対し、明確に規定できる影響はありません。欧米のベジタリアン食は、一般に、非ベジタリアンの欧米食と比べ、豆や果物のような低グリセミック値のもので、耐糖能異常の発生を減少させるかも知れません。

スノードン(Snowdon)とフィリップス(Phillips)⁴³⁾は、自己申告の糖尿病の人は、非ベジタリアンのセブンスデー・アドベンチストよりベジタリアンの方が少なく、また、総合的には、アメリカ人と比べ、セブンスデー・アドベンチストは、糖尿病による死亡率は半分で

あると報告しています。しかし、インドに住むアジアのベジタリアンは、比較的多くの豆類を食べているにもかかわらず、糖尿病の高い発生率に苦しんでいます。炭水化物の多いベジタリアン食は、耐糖能異常と糖尿病に対し予防効果を有しますが、エネルギー、運動や遺伝因子のような他の因子が、これらの条件のリスクを決める上で、より重要な役割を持っています。

5. 肥満

肥満は、代謝に対し多くの異なる影響を与え、その中でCHDのリスクを上げるものがあります。特に、HDLコレステロールを低下させ、血圧を上昇させ、耐糖能異常を誘引させる一方で、血漿総コレステロールを増加させます⁴⁴⁾。また、前向き研究からのデータも、肥満はCHDの重要なリスクであることを示しています^{45,46)}。

多くの研究が、ベジタリアンは、平均的に、対照の非ベジタリアンよりスリムであることを一貫して示しています^{21,47-49)}。4つの大規模なコホート研究のデータを図3-1に示します。平均的BMIはコホート間で確実に異なり（ヨーロッパのコホートよりカリフォルニアのセブン

スデー・アドベンチストの方が高い）ですが、平均的には、それぞれのコホートのベジタリアンは、同一コホート内の非ベジタリアンより、BMIは約1 kg/m²低くなっています。男性と女性では違いがなく、全ての年齢層で見られます。ベジタリアンの低平均BMIは、確実に、肥満の頻度低下に繋がります⁴⁷⁾。

この関連性の原因は、立証されてはいません。肉を食べない人の低BMIは、一部、食物繊維を多く摂取することと動物性脂肪をあまり摂取しないことで、男性に限っては、アルコール摂取が少ないことによると、オックスフォード・ベジタリアン研究での5,000人の男性と女性の分析データは示唆しています。しかし、これらの因子は、BMIに見られる違いの1/3を説明するにすぎません。

6. 喫煙

喫煙は、CHDの主要な因子であり、喫煙の量と直線的なリスクがあります⁵¹⁾。タバコの量に比例してリスクは増大し、ヘビースモーカーは、非喫煙者に比べ、ほぼ3倍のリスクとなります³⁴⁾。葉巻やパイプのような吸い方でも同じくリスクは増えます。

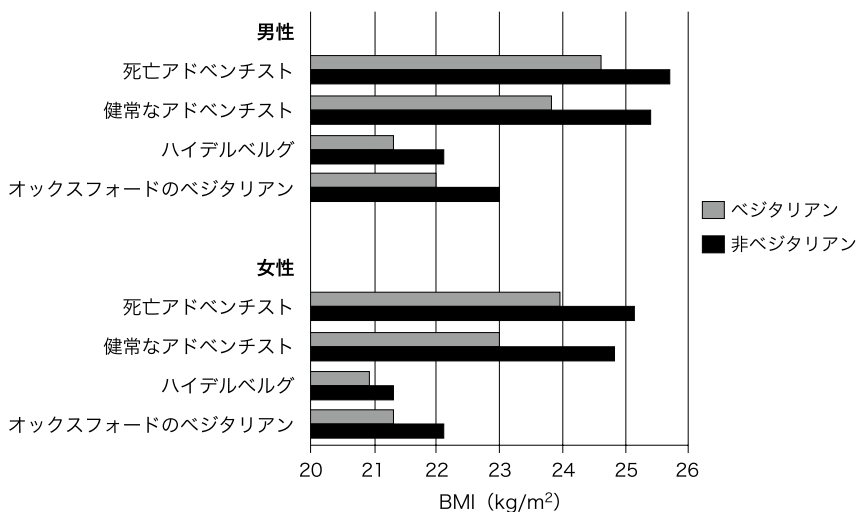


図3-1 4つの大規模コホート研究におけるベジタリアンと非ベジタリアンの平均BMI (キースらより引用⁴⁸⁾)

ベジタリアンは一般の人に比べ喫煙率は低く、また、非ベジタリアンに比べてもかなり低いことを、欧米のベジタリアンの研究は示してきました⁴⁸⁾。従って、CHD のリスクに対するベジタリアン食の影響を考える時には、喫煙の交絡因子を統計的に補正することが重要になります。

7. アルコール

程よい飲酒をする人は、飲まない人に比べ CHD 率は約 30% 低いことが、多くの研究が報告してきました³⁴⁾。飲まない人は飲酒の人とはいろいろな点で異なっていますが、程よい飲酒は CHD に対し、おそらく予防効果があることを示唆しています。飲酒は、HDL コレステロールを増加させ、フィブリノゲンを低下させますが、これらのことは、CHD リスク低下の期待につながります。

欧米のベジタリアンについて、飲酒の研究報告はあまりありませんが、得られるデータでは、飲酒は比較的少ないことを示唆しています⁵²⁾。理論的には、このことは、非ベジタリアンに比べ、CHD リスクを少し上げるかも知れません。しかし、ベジタリアンでは、飲酒が CHD リスクを低下させるという証拠はありません。オックスフォード・ベジタリアン研究では、CHD リスクは飲酒に比例し低下しませんでしたし⁵³⁾、セブンスデー・アドベンチストの研究でも、飲酒は大変に少なく、飲酒と CHD についてのデータは示されませんでした。

8. 運動

身体活動は CHD リスクを低下させます³⁴⁾。ベジタリアンは非ベジタリアンに比べ運動量が多いことを欧米のベジタリアン研究は示していますが、この違いは、CHD の緩やかな低下に繋がるのが期待されます。

B. 考えられるリスク因子

1. ホモシステイン

CHD の患者は、対照に比べ、血清ホモシステイン濃度が高く、これらの違いは症例・対照研究と前向き研究でも観察されました⁵⁴⁻⁵⁶⁾。血清ホモシステイン濃度は、食事中的葉酸とビタミン B₆、ビタミン B₁₂ と比例関係にあります⁵⁷⁾。

一般的に、ベジタリアンは、一般の人に比べ、比較的葉酸摂取が多く、ビタミン B₆ も同様です⁵⁸⁾。しかし、ベジタリアン(特にビーガン)は、ビタミン B₁₂ の摂取が低いのが特徴的です⁵⁹⁾。ビタミン B₁₂ は、植物性食品には必須要素として含まれず、乳製品中にわずか含まれます。(しかし、卵にはやや多めに含まれます) 従って、乳製品や卵、あるいは強化食品やサプリメントを摂取しない場合は、ベジタリアンの毎日のビタミン B₁₂ 摂取は低くなります。たとえば、ホーキン (Hokin) とバトラー (Butler)⁶⁰⁾ は、オーストラリアのセブンスデー・アドベンチスト牧師のベジタリアンの 73% は、血清ビタミン B₁₂ 濃度が低く (<221 pmol/L)、オーストラリアでは、おそらく、ビタミン B₁₂ の食品への強化が制限されているためではないかと報告しました。同様に、ウー (Woo) ら¹⁶⁾ は、中国のベジタリアンの高齢者の 54% は、血清ビタミン B₁₂ 濃度は所要量より低いと報告しました。一般人(多くは非ベジタリアン)にとって、葉酸はホモシステインの重要な規定因子であり、ビタミン B₁₂ はそうではありませんが、ビタミン B₁₂ 摂取は比較的高く、欠乏症はまれです。ベジタリアンは、ビタミン B₁₂ 欠乏症のリスクが高まり、ホモシステイン要求を高めるかも知れません。事実、チリの小規模研究では、ベジタリアン 26 人中 21 人は、血清ビタミン B₁₂ 濃度は 200 pg/ml 以下であることを示しました。これは、血清ホモシステインは、同じ年齢の肉食者よりベジタリアンの方が、41% 高いことを示しています³⁹⁾。

2. 抗酸化物質

スタインバーグ (Steinberg) ら⁶¹⁾ は、LDL コレステロールは酸化された時にアテローム性のみになり、その理由から、抗酸化物質は CHD を予防するかもしれないと提唱しました。カロテノイド、ビタミン C、ビタミン E、セレンや様々な非栄養素のような食品の抗酸化物質は CHD リスクを低下させるかもしれないという仮説を支持するかなりの数の疫学的証拠がありますが、臨床研究では明解に証明されてはいません⁴⁶⁾。

ベジタリアン食は、非ベジタリアン食に比べ、一般に、カロテノイド、ビタミン C とビタミン E を多く含みます。たとえば、ニュージーランドのチノ (Zino) らの研究⁶²⁾ では、果物や野菜摂取を増やすという介入研究が実施され、非アドベンチストの非ベジタリアンと、非ベジタリアンのセブンスデー・アドベンチストよりも、ベジタリアンのセブンスデー・アドベンチストの方が果物と野菜を多く摂取することを報告しました。また、他の人に比べ、血清 β -カロテンと α -トコフェロール濃度はベジタリアンの方が高いのです。同様な結果が他の研究でも報告されています⁶³⁾。

ベジタリアン食は、一般的に、カロテノイド、ビタミン C やビタミン E を比較的豊富に含みますが、セレンや他の抗酸化栄養素は必ずしも豊富ではありません。セレンは、魚に多く含まれ、肉にはやや多く含まれますが、植物性食品のセレン濃度は、土壌中のセレン濃度に強く依存します。例えば、英国⁶⁴⁾ や、フィンランド⁶⁵⁾、スロバキア⁶⁶⁾ のベジタリアンやビーガンが低いセレン濃度であることは、おそらく土壌中の低いセレン濃度に影響されていると、いくつかの小規模研究が報告しています。

3. n-3 系脂肪酸

伝統的なライフスタイルで生活しているエスキモーは、脂肪摂取が多いにもかかわらず

CHD 率が低いという調査があり、n-3 系脂肪酸に富む魚の高い摂取が予防しているかも知れないという仮説を導きました⁶⁷⁾。それ以来、多くの生理学的、疫学的研究が CHD に対する n-3 系脂肪酸の役割について実施されました。この研究の大部分は、魚や魚油、特に、エイコサペンタエン酸 (EPA) とドコサヘキサエン酸 (DHA) で代表される長鎖 n-3 系脂肪酸に関するものでした。しかし、近年、前駆体である、炭素数 18 の α -リノレン酸 (これはある種の植物性食品から得られますが) に関心が集まってきました。

CHD に関連した n-3 系脂肪酸の重要な生理学的効果は、アラキドン酸から生成されるトロンボキサンの阻害による血栓性の低下です。魚油中の長鎖 n-3 系脂肪酸はこの点に関し活性が強く、また、 α -リノレン酸も効果を示します。さらに、魚油と α -リノレン酸とも心筋に対し、抗不整脈効果を持っています^{68, 69)}。魚油は血清トリアシルグリセロール濃度を低下させますが、 α -リノレン酸はこの効果は持っていません。

全てではありませんが、数多くの観察・疫学研究が、程ほどの魚の摂取 (非常に少ない魚の摂取に対し) は、CHD リスクの低下に関与していることを示してきました⁴⁶⁾。さらには、ある無作為割付の 2 次予防研究が、魚の定期摂取を勧めることで心筋による死亡を 34% 低下させたことを示しました⁷⁰⁾。また、他の研究は、魚油の栄養補助が動脈硬化を 20% 低下させたことを報告しました⁷¹⁾。 α -リノレン酸についてはデータはあまり多くはありませんが、CHD リスクを低下させるかもしれないといういくつかのデータがあります。フー (Hu) らは⁷²⁾、 α -リノレン酸を比較的多く摂取している女性では、CHD による死亡率が 45% 低下したことを報告しましたが、おそらく、抗不整脈効果によると思われる。また、 α -リノレン

酸を高めた（他のいくつかの食事の変化と同様に）小規模無作為割付研究は、CHDを65%低下させました⁷³⁾。

ベジタリアン食は一般的には、長鎖n-3系脂肪酸は大変に低いのです。もし鶏が α -リノレン酸の多いえさを食べた場合は、卵にかなり含まれるようになりますが、欧米で生産される卵の殆どは、とうもろこしのようなえさに頼っていて、n-3系脂肪酸に対しn-6系の割合が高く、その結果、長鎖n-3系脂肪酸は少なくなります⁷⁴⁾。乳製品はほんの少ししか長鎖脂肪酸を含まず、植物性食品は含みません。（いくつかの海藻を除いて）ベジタリアン食は、通常、適正量の α -リノレン酸（約1.5 mg/日）を含みますが、また、n-6系脂肪酸も多く含み、同じ酵素を競合します。ベジタリアンとビーガンの長鎖n-3系脂肪酸の細胞中濃度は比較的低いのです^{59, 75)}。

A. 観察研究

2. ベジタリアニズムと冠動脈心疾患

ベジタリアンの比較的低い血清コレステロール値は、CHDリスクを低下させることが期待されます。ベジタリアンのCHDに対する最初の疫学研究は、フィリップス(Phillips)らによって報告されました⁷⁶⁾。CHDの致命的リスクは、35～64歳のセブンスデー・アドベンチストのベジタリアンの男性より、非ベジタリアンの方が3倍も高いことを、彼らは報告しました。その差は高齢の女性と男性では、小さいものでしたが、類似の傾向はありました。ベジタリアンの低いリスクの一部は、喫煙、高血圧や運動のような他のリスク因子によるものでしたが、顕著な死亡率の差は、これらのリスク因子を調整後でもありました。

欧米のベジタリアンの死亡率のデータは、フィリップスらによる初期の研究と⁷⁶⁾多くの

ベジタリアンを対象にした他の4つのコホート研究より得られます。これらの研究の2つは、カリフォルニアのセブンスデー・アドベンチストを対象に実施されたもので、後の2つは英国のベジタリアンとそうでない人と、もう一つはドイツのベジタリアン・マガジンの読者が対象でした。元になっている、これら5つのコホート研究のデータ解析が近年報告され^{48, 52)}、76,000人の男性と女性（その中で28,000人がベジタリアン）が対象でした。重要な点は、それぞれの研究で、ベジタリアンと非ベジタリアンはお互いに健康的な生活に関心があり、似たような社会的・宗教的な背景を有していたことです。全ての結果は、年齢、性別、喫煙について補正され、無作為影響モデルが、全ての研究の影響を推定するために用いられました。BMI、飲酒量、運動や教育レベルの追加補正は、結果には殆ど影響しませんでした。90歳未満では、CHDによる死亡は2,264人でした。非ベジタリアンに比べ、ベジタリアンは、24%低いCHD死亡率でした。（死亡率比0.76, 95%信頼区間(CI) 0.62～0.94）死亡率低下は、より若い層で大きく、CHDによる死亡率比は、65歳未満で0.55 (95%, CI 0.35～0.85), 65～79歳で0.69 (95%, CI 0.53～0.9), 80～89歳で0.92 (95%, CI 0.73～1.16)でした。死亡率の低下は、5年以上、決まった食事を続けたベジタリアンに限られました。非ベジタリアンを通常の肉食者（少なくとも1週間に1回肉食）とセミ・ベジタリアン（魚だけを食べるか、肉は1週間に1回未満）に分けた場合、CHD死亡率比は、セミ・ベジタリアンは通常の肉食者に比べ、0.78 (95%, CI 0.68～0.89)で、ベジタリアンは、0.66 (95%, CI 0.53～0.83)（危険率 $p<0.001$ ）でした。（図3-2）

B. 低脂肪ベジタリアン食の介入研究

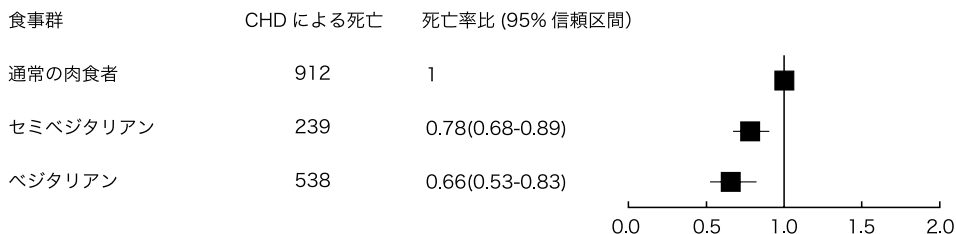


図 3-2 ベジタリアンと非ベジタリアンの死亡率統合解析

通常の肉食者と比較した、それぞれの CHD の死亡率比 (95% 信頼区間) (年齢, 性別, 喫煙を補正) 変量モデルを採用 (Key らから引用)

オーニッシュ (Ornish) ら²²⁾ は、低脂肪ベジタリアン食を含んだ強度のライフスタイル変更プログラムによる日常への影響を比較するために、中程度から重症の CHD 患者 48 人を対象に無作為割り付け研究を実施しました。5 年後、低脂肪ベジタリアンの冠状動脈狭窄の径の割合が低下し、対照群では増加しました。対照群の心臓病に対するリスク比は、2.47 (95%, CI 1.48 ~ 4.2) でした。介入 1 年後、実験群で LDL コレステロールが 40% 減少し、対照群ではたった 1% の減少でした。この違いはその後の追加試験ではなくなりましたが、有益な効果は LDL コレステロール低下であると言えます。実験群の脂肪摂取と LDL コレステロールの減少は、自由に生活している肉食者とベジタリアンとの間に見られる差以上に、大変に大きなものであることは注目すべきです。

C. 食品, 栄養素, ベジタリアニズム, そして, 冠動脈心疾患

ベジタリアンの CHD の低下は、少なくともその一部は、低い飽和脂肪酸とコレステロール摂取に起因する、低い血清コレステロール値に由来するようです。不幸にも、ベジタリアンの死亡率の 5 つの前向き研究のいずれも、全ての被験者の血清コレステロール値の完全な情報がないので、ベジタリアンと非ベジタリアン間の CHD の差が、コレステロール値の差によって

統計的に説明できるかどうかは、現時点では、難しいのです。

それでも、ベジタリアンのコホート研究から、CHD と様々な食品との関係について、いくつかのデータが得られます。カリフォルニアのセブンスデー・アドベンチストの男性を対象とした 2 つの大規模前向き研究では、肉の摂取が CHD に強く関与していました^{49, 77)}。また、ごく最近の研究では見られませんが⁴⁹⁾、初期の女性対象の研究でも、弱くではありますが、肉摂取を肯定する関係が見られました⁷⁷⁾。

乳製品ではなく卵は、セブンスデー・アドベンチストの間では、CHD リスク増加に関与していました⁷⁷⁾。オックスフォード・ベジタリアン研究では、肉摂取の頻度は CHD による死亡率と有意な関係はありませんでしたが、チーズ、卵、動物性脂肪や食事からのコレステロールの摂取は、それぞれに CHD 死亡率と強く相関していました。

これらの食品の比較的少ない摂取群と比べると、死亡率比はチーズで 2.47 (95%, CI 0.97 ~ 6.26)、卵で 2.68 (95%, CI 1.19 ~ 6.02)、動物性脂肪で 3.29 (95%, CI 1.5 ~ 7.21)、食事性コレステロールで 3.53 (95%, CI 1.57 ~ 7.96) でした。(図 3-3)⁷⁸⁾ これらの結果は、血清コレステロールに対する動物性飽和脂肪酸の影響に全て起因するののかも知れません。

オックスフォード・ベジタリアン研究では、

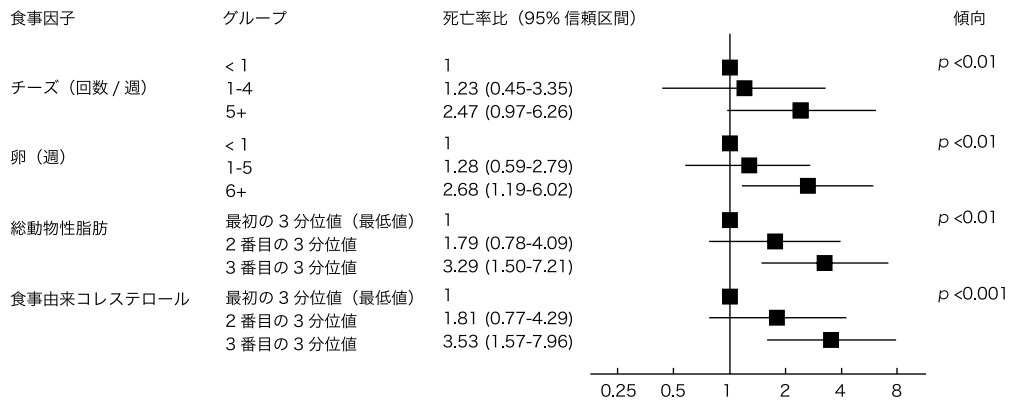


図 3-3 オックスフォード・ベジタリアン研究

既往歴のない集団を対象にした、食事因子の CHD に対する死亡率比 (95% 信頼区間)

CHD を有意に低下させる食品は見つかりませんでした。カリフォルニアのアドベンチスト健康調査では、全粒パンとナッツの継続摂取はリスク低下に相関していました^{79, 80)}。同様な関係が、非ベジタリアン群で、豊富な食物繊維⁸¹⁾とナッツ⁸²⁾で観察されました。

ベジタリアン食と CHD リスク低下との相関を確定するには現在、データは不足しています。組み合わせることで、恐らく、いくつかのメカニズムが想定可能になります⁸³⁾。われわれの意見を言えば、最も単純で、恐らく最も考えられる説明ですが、ベジタリアンの動物性脂肪の低い摂取が低血清コレステロール値を生じさせ、それが、CHD リスクを低下させるということです。この仮説を実証するために、血清コレステロール濃度の測定と食事の評価を考慮したベジタリアンのさらなる大規模前向き研究が要請されます。

A. ビーガンの冠状動脈心疾患

3. 更なる研究が必要なテーマ

ビーガンの長期の健康に関するデータはあまりありません。前記の 5 つの前向き研究の分析では、27,808 人のベジタリアンが含まれ

ていましたが、その中、753 人だけがビーガンでした⁵²⁾。これらのコホート中の通常の肉食者と比べたところでは、ビーガンの CHD に対する死亡率比は 0.74 (95%, CI 0.46 ~ 1.21) でした。この推定への信頼区間は広いので、ビーガンの CHD による死亡率が通常の肉食者と差があるということには現在は無理があります。しかし、この分析では、非ベジタリアンと比べて、ベジタリアンの死亡率比は類似しています。

冠状動脈リスク因子の点から言えば、ビーガンは肉食者に比べかなり低い血清コレステロール値 (約 1 mmol/l 低い) を有し、そしてまた痩身 (2 kg/m² に対し 1) であることをすべての研究は示しています。これらの差は、CHD による死亡率を確実に低下させることが期待されます。血圧や凝血因子には一貫した差がないことは知られています。ビーガン食は、しばしば、ビタミン B₁₂ が不足しますので、潜在的にホモシステイン値の上昇を起こし、長鎖 n-3 脂肪酸の大きな不足は血小板凝集の上昇を引き起こします。(3-C と 3-D 参照)

B. 南アジア・ベジタリアンの冠状動脈心疾患

インド地方 (バングラデッシュ、インド、パキスタン) からの南アジア移民は、移民先に住

む他の民族の人よりも、CHDによる高い死亡率を有します⁸⁴⁾。南アジアでは、信頼できる集団によるCHDデータは入手できませんが、死亡率はおそらく地方で低く都市部で高いと考えられます⁸⁴⁾。多くの南アジア人はベジタリアンですが、このタイプのベジタリアンはCHDリスクを低下させないと思われず。しかし、南アジア人は、ライフスタイルと遺伝的な面で他の民族と異なり、バンガローレとインドでのCHDのリスク因子（特に、急性の心筋梗塞）についての症例研究では、ベジタリアンは45%のリスク低下が観察されました。これは、彼らの低い血糖値と低いヒップ対ウエスト比で部分的に説明がつかます⁸⁵⁾。

C. ビタミンB₁₂とホモシステイン

ベジタリアンとビーガンのビタミンB₁₂の食事からの摂取は、少なくなってしまう^{58-60, 86)}。ベジタリアンのビタミンB₁₂の供給源は、乳製品、卵、強化食品（特に肉もどき食品、豆乳、酵母エキスと朝食シリアル）とビタミンサプリメントです。もしこれらのビタミンB₁₂食品が定期的に摂取されないとすると、このビタミンの摂取は低いものとなり、不足のリスクが増加します。ベジタリアンのビタミンB₁₂の摂取実態と、ビタミンB₁₂がホモシステインとCHDリスクの決定因子かどうかについて、さらなるデータが必要です。

D. n-3系脂肪酸

定義によると、ベジタリアン食は、長鎖n-3系脂肪酸の油分に富む魚を避けることになっています。乳製品はほんのわずかな量の長鎖n-3系脂肪酸を含みますが、卵はえさに左右され、(1-B, 3参照) これらの脂肪酸をかなり含みます。ベジタリアン食は通常n-3系脂肪酸の α -

リノレン酸を、特に大豆やなたね油（カノーラ）（亜麻仁油は、この脂肪酸を豊富に含みますが、あまり一般的に摂取はされません）はある程度含みます。しかし、ベジタリアン食は、また、n-6系のリノール酸が豊富で、 α -リノレン酸の長鎖延長物質である、EPAやDHAへの鎖長延長を阻害します。CHDに対するこれらの因子（また、健康に対する他の視点への）の重要性が、もっと十分に説明されることが必要です。しかし、最近の知見は、ベジタリアンは適正量の α -リノレン酸を摂るための食品を選び、n-6対n-3比を4:1～10:1になる様にn-6のリノール酸摂取を控えるべきであることを推奨しています^{87, 88)}。実際には、コーン油やひまわり油よりも大豆やなたね油を志向することです。

最も重要で、既知と言えるCHDに対する食

4. 結論

事関連のリスク因子は、高血清コレステロール、高血圧と高いBMIです。非ベジタリアンと比べると、欧米のベジタリアンはより低い血清コレステロール値（約0.5 mmol/l）と低いBMI（1 kg/m²）を有し、やや低い血圧を持つかもしれません。ベジタリアンの低コレステロール値は、CHDによる死亡率を約25%低下させると期待されます。ベジタリアンの方が非ベジタリアンよりCHD死亡率は24%低いことを、前向き研究の統合解析が示しています。

従って、全体として、欧米のベジタリアン食は、CHDに対し重要な予防効果を持つようです。ビーガンと南アジア人の死亡率と、ホモシステインの血清濃度と長鎖n-3系脂肪酸の細胞濃度に対して、想定されるベジタリアン食の悪影響について、さらなる研究が求められます。

参考文献

- 1) Lopez,A.D.and Murray, C.J.L. The global burden of disease, 1990-2020. *Nature Medicine*, **4**: 1241, 1998.
- 2) Law, M.R., Wald, N.J., Wu, T., Hackshaw,A., and Bailey, A. Systematic underestimation of association between serum cholesterol concentration and ischaemic heart disease in observational studies: data from the BUPA study. *Brit. Med. J.*, **308**: 363,1994.
- 3) Law, M.R., N.J. and Thompson, S.G. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *Brit.Med.J.*, **308**:367,1994.
- 4) Chen, Z., Peto,R.,Collins,R.,MacMahon,S.,Lu,J.,and Li,W. Serum cholesterol concentration and coronary heart disease in a population with low cholesterol concentration. *Brit.Med.J.*,**303**:276,1991.
- 5) Sacks,F.M. Why cholesterol as a central theme in coronary heart disease? *Am.J.Cardiol.*,**82**:14,1998.
- 6) Hardinge,M.F. and Stare,F.J. Nutritional studies of vegetarians. II . Dietary and serum levels of cholesterol. *Am.J.Clinic. Nutr.*,**2**:83,1954.
- 7) Thorogood,M.,Carter,R.,Benfield,L.,MacPherson,K.,and Mann,J.I. Plasma lipids and lipoprotein cholesterol concentration in people with different diets in Britain. *Brit.Med.J.*,**295**:351,1987.
- 8) Kes,A.,Anderson,J.T.and Grade,F. Prediction of serum cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet*,**2**:959,1957.
- 9) Thorogood,M.,Roe,L.,McPherson,K., and Mann,J. Dietary intake and plasma lipid level: lessons from a study of the diet of health conscious groups. *Brit.Med.J.*,**300**:1297,1990.
- 10) West,R.O.and Hayes,O.B. Diet and serum cholesterol levels. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**21**:853,1968.
- 11) Fraser,G.E.,Dysinger,W.,Best,C.,and Chan,R. Ischemic heart disease risk factors in middle-aged Seventh-Day Adventist men and their neighbors. *Am.J.Epidemitol.*,**126**:638,1987.
- 12) Burslem,J.,Schobfeld,G.,Howald,M.A.,Weidman,S.W.,and Miller,J.P. Plasma apoprotein and lipoprotein lipid levels in vegetarians. *Metabolism*,**27**:711,1978.
- 13) Sacks,F.M.,Castelli,W.P.,Donner, A .,and Kass,E.H. Plasma lipids and lipoprotein in vegetarians and controls. *New Eng.J.Med.*,1148,1975.
- 14) Burr,M.L.,Bates,C.J.,Fehily,A.M.,and St.Leger,A.S. plasma cholesterol and blood pressure in vegetarians. *J.Human Nutr.*,**35**:437,1981.
- 15) Thomas,H.V.,Davey,G.K.,and Key,T.J. Orestradiol and sex hormone-binding globulin premenopausal meat-eaters, vegetarians and vegans. *Brit.J.Cancer*,**80**:1470,1999.
- 16) Woo,J.,Kwok,T.,Ho,S.C.,Sham,A.,and Lau,E. Nutritional status of elderly Chinese vegetarians. *Age& Ageing*,**27**:455,1998.
- 17) Nagyova,A.,Kudlackova,M.,Grancicova,E., and Magalova,T. LDL oxidizability and antioxidative status of plasma in vegetarians. *Ann.Nutr.& Metab.*,**42**:328,1998.
- 18) Famidu,A.A.,Osilesi,O.,Makinde,Y.O.,and Osonuga,O.A. Blood pressure and blood lipid levels among vegetarian, semi-vegetarian, and non-vegetarian native Africans. *Clinic.Biochem.*,**31**:545,1998.
- 19) Medkova,I.L.,Manchuk,V.T.,Mosiakina,L.I.,Polivanova,T.V.,Lundina,T.A.,and Koroleva-Munts,L.I. Data from an expedition to study a Siverian began settlement. Russian. *Voprosy Pitaniia*,**3**:3,1998.
- 20) Richter,V.,Purschwitz,K.,Bohusch,A.,Sem,H.,Weisbrich,C.,Reuter,W.,Sorger,D.,and Rassoul,F. Lipoproteins and other clinical-chemistry parameters under the conditions of lacto-ovo-vegetarian nutrition. *Nutr.Res.*,**19**:545,1999.
- 21) Dwyer,J.T. Health aspects of vegetarian diets. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**48**:712,1988.
- 22) Ornish,D.,Scherwitz,L.W.,Billings,J.H.,Gould,K.L.,Merrit,T.A.,Sparler,S.,Armstrong,W.T.,Ports,T.A.,Kirkeeide,R.L.,Hogeboom,C.,and Brand,R.J. Intensive lifestyle changes for reversal of coronary heart disease. *JAMA*,**280**:2001,1998.
- 23) Mckeigue,P.M.,marmot,M.G.,Adelstein,A.M.,Hunt,S.P.,Shipley,M.J.,Butler,S.M.,Riemersma,M.J.,and Turner,P.R. Diet and risk factors for coronary heart disease in Asian in northwest London. *Lancet*,**2**:1086,1985.
- 24) Chuang,C.Z.,Subramaniam,P.N.,LeGardeur,B.Y.,and Lopez,A. Risk factors for coronary artery disease and levels of lipoprotein(a) and fat-soluble antioxidant vitamins in Asian Indians of USA. *Indian Heart J.*,**50**:285,1998.
- 25) Appleby,P.N.,Thorogood,M.,McPherson,K.,and MannJ.I. Associations between plasma lipid concentrations and dietary, lifestyle,and physical factors in the Oxford Vegetarian Study. *J.Human Nutr.&Dietetics*,**8**:305,1995.

- 26) Clarke,R.,frost,C.,Collins,R.,Appleby,P.,and Peto,R. Dietary lipids and blood cholesterol: quqntitative meta-analysis of metabolic ward studies. *Brit.Med.J.*,**314**:112,1997.
- 27) Austin,M.A.,Hokanson,J.E.,and Edwards,K.L. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am.J.Cardio.*,**81**:7,1998.
- 28) Stamler,J.,Stamler,R.,and Neaton,J.D. Blood pressure, systolic and diatolic, and cardiovascular risks. *Arch.Intern. Med.*,**153**:598,1993.
- 29) MacMahon,S.,Peto,R.,Cutler,J.,Collins,R.,Sorlie,P.,Neaton,J.,Abbott,R.,Godwin,J.,Dyer,A.,and Stamler,J. Blood pressure,stroke, and coronary heart disease. *Lancet*, **335**:765,1990.
- 30) Elliot,P.,Marmot,M.,Dyer,A.,Joossens,J.,Kesteloot,H.,Stamler,R.,Stamler,J.,and Rose,G. The INTERSALT study: main results, conclusions, and some implications. *Clinical & Experimental Hypertension-Part A,Theory & Pactice*,**11**:1025,1989.
- 31) Elliot,P.,Stamler,J.,Nichols,R.,Dyer A.R.,Stamler,R.,Kesteloot,H.,and Marmot,M. for the Intersalt Cooperative Research Group. Intersaly revisited: further analyses of 24-hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. *Brit. Med.J.*,**312**:1249,1996.
- 32) Beilin,L.J. Vegetarian and other complex diets,fats, fiber,and hypertension. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**59**:1130s,1994.
- 33) Kihara,M.,Fujikawa,J.,Ohtake,M.,Mano,M.,Nara,Y.,Horie,R.,Tsunematsu,T.,Note,S.,Fukase,M.,and Tamori,Y. Interrelationships between blood pressure, sodium, potassium, serum cholesterol, and protein intake in Japanese. *Hypertension*,**6**:736,1984.
- 34) Marmot,M.G.,and Mann,J.I. Ischaemic heart disease: Epidemiology and prevention . In:*Oxford Textbook of Medicine*. Weatherall,DJ.,Ledingham,J.G.G.,and Warrell,D.A.,Eds,Oxford University Press,Oxford,1996,2305.
- 35) Danesh J.,Collins,R.,Appleby,P.,and Peto,R. Association of fibrinogen, C-reactive protein,albumin,or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analysis of prospective studies. *JAMA*,**279**:1477,1998.
- 36) Meade,T.W.,Ruddock,V.,Stiling,Y.,Chakrabarite,R.,and Miller,G.J. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet*, **342**:1076,1993.
- 37) Vorster,H.H.,Cummings,J.H.,and Veldman,F.J. Diet and Haemostasis:time for nutrition science to get more involved. *Brit.J.Nutr.*,**77**:671,1997.
- 38) Famodu,A.A.,Osilesi,O.,Makinde,Y.O.,Osonuga,O.A.,Fakoya,T.A.,Ogunyemi,E.O.,and Egbenehkhure,I.E. The influence of a vegetarian diet on haemostatic risk factors for cardiovascular disease in Afrians. *Thrombosis Res.*,**95**:31,1999.
- 39) Mezzano,D.,Munoz,X.,Martinez,C.,Cuevas,A.,Panes,O.,Aranda,E.,Guash,V.,Strobel,P.,Munoz,B.,Rodriguez,S.,Pereria,J.,and Leighton,F. Vegetarians and cardiovascular risk factors: Haemostasis, inflammatory markers, and plasma homocysteine. *Thrombosis and Haemostasis*,**81**:913,1999.
- 40) Pan,W.H.,Chin,C.J.,Sheu,C.T.,and Lee,M.H. Hemostatic factors and blood lipids in young Buddhist vegetarians and omnivores. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**58**:354,1993.
- 41) Li,D.,Sinclair,A.,mann,N.,turner,A.,Ball,M.,Kelly,F.,Abedin,J.,and Wilson,A. The association of diet and thrombotic risk factors in healthy male vegetarians and meat-eaters. *Europ.J.Clinic.Nutr.*,**53**:612,1999.
- 42) Turner,R.C.,Millns,H.,Neil,H.A.W.,Stratton,I.M.,ManleyS.E.,Matthews,D.R.,and Holman,R.R. Risk factors for the coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: for the United Kingdom Prospective Diabetes Study Group(UKPDS:23). *Brit.Med.J.*,**316**:823,1998.
- 43) Snowdon,DA.,nd Phillips,R.L. Does a vegetarian diet reduce the occurrence of diabetes? *Am.J.Public Hlth.*,**75**:507,1985.
- 44) LaRosa,J.C.,Hunninghake,D.,Bush,D.,Criqui,M.H.,Getz,G.S.,Gotto,A.M.,Jr.,Grundy,S.M.,Rakita,J.,Robertson,R.M.,Weisfeldt,M.L.,and Cleeman,J.I. A summary of the evidence relating dietary fats,serum cholesterol, and coronary heart disease. *Circulation*,**81**:1721,1990.
- 45) Hubert,H.B.,Feinleib,M.,McNamara,P.M.,and Castelli,W.P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the Framingham heart Study. *Circulation*,**67**:968,1983.
- 46) Willet,W. diet and coronary heart disease. In: *Nutritional Epidemiology*. Willet,W.,Oxford University Press,Oxford,1998,414.
- 47) Key,T.J.,and Davey,G. Prevalence of obesity is low in people who do not eat meat. *Brit.Med.J.*,**313**:816,1996.
- 48) Key,T.J.,Fraser,G.E.,Thorogood,M.,Appleby,P.N.,Beral,V.,Reeves,G.,Burr,M.L.,Chang-Claude,J.,Frentzel=Beyme,

- R.,Kuzma,J.W.,Mann,J., and McPherson,K. Mortality in vegetarians and non-vegetarians: a collaborative analysis of 8300 deaths among 76,000 men and women in five prospective studies. *Publ.Hlth.Nutr.*, **1**:33,1998.
- 49) Fraser,G.E. Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-Day Adventists. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **70**:532S,1999.
 - 50) Appleby,P.N.,Thorogood,M.,Mann,J.I.,and Key,T.J. Low body mass index in non-meat-eaters: the possible roles of animal fat, dietary fibre, and alcohol. *Int.J.Obesity*, **22**:454,1998.
 - 51) Parish,S.,Collins,R.,Peto,R.,Youngman,L.,Barton, J.,Jayne,K.,Clarke,R.,Appleby,P.,Lyon,V.,and Cederholm-Williams,S. Cigarette smoking, tar yields, and non-fatal myocardial infarction: 14,000 cases and 32,000 controls in the United Kingdom. The international Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. *Brit.Med.J.*, **311**:471,1995.
 - 52) Key,T.J.,Fraser,G.E.,Thorogood,M.,Appleby,P.N.,Beral,V.,Reeves,G.,Burr,M.L.,Chang-Claude,J.,Frentzel-Beyne,R.,Kuama,J.W.,and McPherson,K. Mortality in vegetarians and non-vegetarians: detailed findings from a collaborative analysis of five prospective studies. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **70**:515S,1999.
 - 53) Mann,J.,Appleby,P.N.,Key,T.J.,and Thorogood,M. Dietary determination of ischaemic heart disease in health conscious individuals. *Heart*, **78**:450,1997.
 - 54) Stampfer,M.J.,Makinow,M.R.,Willett,W.C.,Newcomer,L.M.,Upson,B.,Ullman,D.,Tishler,P.V.,and Hennekens,C.H. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in U.S. physicians. *JAMA*, **268**:877,1992.
 - 55) Anersen,E.,Refsum,H.,Bonna,K.H.,Ueland,P.M.,Forde,O.H.,and Nordrehaug,J.E. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int.J.Epidemiology*, **24**:704,1995.
 - 56) McCluy,K.S. Homocysteine, folate, vitamin B6, and cardiovascular disease. *JAMA*, **279**:392,1995.
 - 57) Hankey,G.J.,and Eikelboom,J.W. Homocysteine and vascular disease. *Lancet*, **354**:407,1999.
 - 58) Draper,A.,Lewis,J.,Malhorta,N.,and Wheeler,E. The energy and nutrient intakes of different types of vegetarian: a case for supplements? *Brit.J.Nutr.*, **69**:3,1993.
 - 59) Sanders,T.A.B. The nutritional adequacy of plant-based diets. *Proc.Nutr.Soc.*, **58**:265,1999.
 - 60) Hokin,B.D.,and Butler,T. Cyanocobalamin(vitamin B₁₂) status in Seventh-Day Adventist ministers in Australia. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **70**:576S,1999.
 - 61) Steinberg,D.,Parthasarathy,S.,Carew,T.E.,Khoo,J.C.,and Witztum,J.L. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New Eng.J.Med.*, **320**:915,1988.
 - 62) Zino,S.J.M.,Marman,S.K.,Skeaff,C.M.,and Mann,J.I. Fruit and vegetable consumption and antioxidant status of Seventh-Day Adventists: *Nutr.& Metabol. Cardiovasc.Disease*, **8**:297,1998.
 - 63) Pronczuk,A.,Kipervarg,Y.,and Hayes,K.C. Vegetarian have higher plasma alpha-tocopherol relative to cholesterol than do non-vegetarians. *J.Am.College of Nutr.*, **11**:50,1992.
 - 64) Judd,P.A.,Long,A.,Buther,M.,Caygill,C.P.,and Diplock,A.T. Vegetarians and vegans may be most at risk from low selenium intakes. *Brit.Med.J.*, **314**:1834,1997.
 - 65) Rauma,A.L.,Torrönen,R.,Hänninen,O.,Verhagen,H.,and Mykkanen,H. Antioxidant status in long-term adherents to a strict uncooked vegan diet. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **62**:1221,1995.
 - 66) Kovacicova,Z.,Cerhata,D.,Kadrabova,J.,Madaric,A.,and Ginter,E. Antioxidant status in vegetarians and non-vegetarians in Bratislava region (Slovakia). *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, **37**:178,1998.
 - 67) Sinclair,H. Diet and heart disease. *Brit.Med.J.*, **2**:1602,1977.
 - 68) Leaf,A. Dietary prevention of coronary heart disease. *Circulation*, **99**:733,1999.
 - 69) Simopoulos,A.P. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **70**:560S,1999.
 - 70) Burr,M.L.,Fehily,A.M.,Gilbert,J.F.,Rogers,S.,Holliday,R.M.,Sweetnam,P.M.,Elwood,P.C.,and Deadman,N.M. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*, **2**:1450,1989.
 - 71) GISSI-Prevenzione Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet*, **354**:447,1999.
 - 72) Hu,F.B.,Stampfer,M.J.,Manson,J.E.,Rimm,E.B.,Wolk,A.,Colditz,G.A.,Hennekens,C.H.,and Willett,W.C. Dietary intake of α -linolenic acid and risk of fatal ischemic heart disease among women. *Am.J.Clinic.Nutr.*, **69**:890,1999.
 - 73) de Lorgeril,M.,Salen,P.,Martin,J.L.,Monjaud,I.,Deleya,J.,and Mammelle,N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. *Circulation*, **99**:779,1999.

- 74) Simopoulos,A.P.,and Salem,Jr,N. n-fatty acids in eggs from range-fed greek chickens. *New Engl. J.Med.*,**321**:1412,1989.
- 75) Li,D.,Ball,M.,Bartlet,M.,and Sinclair,A. A lipoprotein(a),essential fatty acid status and lipoprotein lipids in female Australian vegetarians. *Clinical science*,**97**:175,1999.
- 76) Pillips,R.L.,Lemon,F.R.,beeson,W.L.,and Kuzma,J.W. Coronary heart disease mortality among Seventh-Day Adventists with differing dietary habits: a preliminary report. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**31**:S191,1978.
- 77) Snowdon,D.A.,Pillips,R.L.,and Fraser,G.E. meat consumption and fatal ischemic heart disease. *Preventive Medicine*,**13**:490,1984.
- 78) Appleby,P.N.,Thorogood,M.,Mann,J.I.,and Key,T.J. the Oxford Vegetarian Study:an overview. *Am.J.Clinic. Nutr.*,**70**:525S,1999.
- 79) Fraser,G.E.,Sabate,J.,Beeson,W.L.,and Strahan,T.M. Possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. *Arch.Int.Med.*,**152**:1416,1992.
- 80) Sabate,J. Nut consumption, vegetarian diet, ischemic heart disease risk, and all-cause mortality: evidence from epidemiologic studies. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**70**:500S,1999.
- 81) Pietinen,P.,Rimm,E.B.,Korhonen,P.,Hartman,A.M.,Willett,W.C.,Albanes,D.,and Virtamo,J. Intake of dietary fiber and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. *Circulation*,**94**:2720,1996.
- 82) Hu,F.B.,Stampfer,M.J.,Manson,J.E.,Rimm,E.B.,Colditz,G.A.,Rosner,B.A.,Speizer,F.E.,Hennekens,C.H.,and Willett,W.C. Frequent nut consumption and risk of coronary heart disease in women: prospective cohort study. *Brit.Med.J.*,**317**:1341,1998.
- 83) Fraser,G.E. Diet and coronary heart disease :beyond dietary fats and low-density-lipoprotein cholesterol. *Am.J.Clinic.Nutr.*,**59**:1117S,1994.
- 84) McKeigue,P.M. Cardiovascular disease and diabetes in migrants-interactions between nutritional changes and genetic background, lessons from contrasting worlds. In: *Diet, Nutrition and Chronic Disease*, Shetty,P.S. and McPherson,K.,Eds.,John Wiley & Sons,Chichester,1997,59.
- 85) Pais,P.,Pogue,J.,Gerstein,H.,Zachariah,E.,Savitha,D.,Jayprakash,S.,Nayak,P.R.,and Yusuf,S. Risk factors for acute myocardial infarction in Indians:a case-control study. *Lancet*,**348**:358,1996.
- 86) Alexander,D.,Ball,M.J.,and Mann,J. Nutrient intake and haematological status of vegetarians and age-sex matched omnivores. *Europ.J.Clinic.Nutr.*,**48**:538,1994.
- 87) Sanders,T.A.B. Essential fatty acid requirement of vegetarians in pregnancy,lactation,and infancy. *Am.J.Clinic. Nutr.*,**70**:555S,1999.
- 88) FAO/WHO. Fats and oils in human nutrition(report of a joint expert consultation). FAO,Rome,1994.(Food and Nutrition paper 57).

匍匐性權脚類による二枚貝飼育水槽の汚れ除去

酒本 秀一^{*1} 大橋 勝彦^{*2} 仙石 義昭^{*3}

^{*1}SAKAMOTO Shuichi,

^{*2}OHASHI Katsuhiko (日本ドナルドソントラウト研究所), ^{*3}SENGOKU Yoshiaki (別海漁業協同組合)

Key Words: 二枚貝飼育水槽・汚れ・残餌・擬糞・糞・アサリ・貝殻表面黒化・匍匐性權脚類・Tisbe

近年日本ではアサリやハマグリ等の低棲性二枚貝類の資源が著しく減少し、国内産で需要量が賄いきれずに海外からの輸入品で不足を補っているのが実情である。何故干潟に普通に棲息していた二枚貝が減少したのであろう。棲息適地面積の減少、棲息環境の悪化、海域の貧栄養化による植物プランクトンの増殖不良、食害生物の増加、寄生虫や病気の蔓延等色々な原因が考えられる。国内の天然貝が減少すれば輸入ではなく養殖をと考えるのが普通であると思うが、未だ日本で低棲性二枚貝類の大規模な養殖は行われていない。著者らはその理由の一つに適切な二枚貝用飼料が開発されていないことが有ると考え、実用化可能な二枚貝用飼料の開発を試みてきた¹⁻³⁾。その結果、価格等の面でまだ問題が有るもののササビノリを原料中に含む飼料でホタテやアサリが十分に陸上飼育出来ることが分かった。

飼料原料として備えていなければならない特性は、入手が容易で、原料配合時の物性に問題が無く、栄養成分が優れていること等である。更に価格が妥当であることも重要である。

アマノリ属のササビノリ (所謂海苔であ

る) は日本における代表的な養殖海藻で、年間40万トンも生産されており、入手は容易である。また、表1, 2, 3に示す実測値や食品成分表⁴⁾、日本食品標準成分表⁵⁾等から栄養成分はタンパク質に富み、多くの生物にとって必須のアミノ酸であるイソロイシン (Ileu)、ロイシン (Leu)、リジン (Lys)、メチオニン (Met)、フェニルアラニン (Phe)、スレオニン (Thr)、トリプトファン (Trp)、バリン (Val)、ヒスチジン (His)、アルギニン (Arg) 等の含量が多

表1 ササビノリの生葉体とスフェロプラストの成分

供試海苔	生	スフェロプラスト
一般成分		
水分 (%)	85.7	7.3
乾物	14.3	92.6
タンパク質 (% 乾物)	25.9	47.1
脂質	0.7	3.6
灰分	28.7*	11.8
炭水化物	44.7	37.5
水溶性窒素	1.4	2.2
タウリン (mg% 乾物)	839	508
ビタミン		
B ₁₂ (μg% 乾物)	43.3	69.5
C (mg% 乾物)	147	29
α-カロテン	2.0	2.8
β-カロテン	19.2	16.5
α-トコフェロール	2.1	2.8

*: 生海藻の灰分含量が高いのは海水由来

表2 スサビノリの生葉体とスフェロプラストの
アミノ酸組成

供試海苔	生	スフェロプラスト
必須アミノ酸		
Ileu (%)	3.86	4.13
Leu	7.44	8.24
Lys	5.51	4.99
Met	1.93	2.54
Phe	4.41	4.96
Thr	6.34	6.11
Trp	1.10	1.69
Val	6.34	6.11
His	2.20	2.45
Arg	6.34	5.87
非必須アミノ酸		
Cys (%)	1.65	1.49
Tyr	3.86	4.04
Ala	11.02	9.81
Asp	9.92	10.05
Glu	10.19	9.56
Gly	7.44	7.29
Pro	4.96	5.04
Ser	5.51	5.62

いことが分かる。更に二枚貝類をはじめとする軟体動物に多量に含まれているタウリン (Tau) も多い。ビタミン類では A, K 等の脂溶性ビタミン, B₁, B₂, ナイアシン, 葉酸, B₁₂, C 等の水溶性ビタミン, ミネラル類では K, Mg, P, Fe 等が多く含まれている。脂質含量は少ないものの, 脂肪酸組成では陸上動物, 水棲動物に拘らず重要な生理活性を有しているエイコサペンタエン酸 (EPA, 20:5n3) の占める割合が高い。この様にスサビノリは入手の容易さや栄養成分含量に関する限り問題は無いものと思われる。

二枚貝類は大量の水を吸い込み, その中に含まれている植物プランクトン等の餌を鰓で濾し取る。そのうち餌として粒径等が適切なものみを口から消化管に取り込む。取り込まれなかった部分は粘液等で凝集させて擬糞としてそのまま貝殻の外に吐き出す。取り込まれた餌のうち消化吸収されなかった部分は糞として排泄する。

表3 スサビノリの脂肪酸組成

供試海苔	乾燥海苔*	スフェロプラスト
14:0 (%)	0.1	0.4
16:0	22.3	24.9
16:1n7	2.4	1.1
18:0	0.6	0.9
18:1n9	2.9	2.8
18:1n7		0.6
18:2n6	1.7	1.2
18:3n3	0.2	0.2
18:4n3	0.2	0.6
20:1	2.7	4.0
20:4n6	4.4	10.1
20:5n3	53.6	34.9
22:1	0.7	2.4
22:5n3	0.2	0.4
22:6n3		1.1

*: 日本食品標準成分表より計算

二枚貝を配合飼料で長期間飼育すると食べ残しの飼料が沈下した物や擬糞, 糞等の排泄物によって水槽内が著しく汚れ, 飼育環境が悪化する。大量の二枚貝を長期間安定して水槽で飼育するには水槽内の汚れを除去する方法の開発が必須であることは既に報告した²⁾。

残餌や排泄物による水槽内の汚れを防止する方法には物理的処理法と生物学的処理法が考えられる。物理的処理法として, ①二枚貝の飼育水槽を二重底にし, 残餌や排泄物を貝が居る部分の下に集め, 強い水流によって水槽外に排出する方法, ②水槽の底部から強い勢いで水を噴出し, 残餌や排泄物を遊離させて水槽外に排出する方法, 等が考えられるが, 実際にこれを生産現場で実施しようとするとはそれ程簡単ではない。また, この様な物理的な処理法で対処しようとするとは設備が大掛かりになり, 費用の面でも問題が生じる可能性が高い。残餌が生じない給餌法や沈下しない飼料の開発を目指す方が良いのではないと思われる。

一方, 生物学的な処理法としては, 残餌や二枚貝の排泄物を餌として利用する生物を共存さ

せることによって水槽内の汚れを除去することが考えられる。共存させる生物が有用であれば更に良い。二枚貝の飼育と共存生物の増殖、成長を同時に行い、別々に回収して二枚貝は二枚貝、共存生物は共存生物として販売することも考えられる。

著者らは二枚貝用飼料の試験を行う過程で、スサビノリのスフェロプラストを含む飼料を与えた水槽には特定の匍匐性權脚類が大量に増殖して水槽の汚れが無くなることを見出したので、その概要を説明する。

試験 -1

1. 材料と方法

1-1. 試験飼料

試験区にはスサビノリのスフェロプラストを主原料とするスフェロプラスト飼料を投与する区と魚粉が主原料である市販のアユ用初期飼料を投与する2区を設定した。スフェロプラスト飼料はスサビノリのスフェロプラスト乾燥品を86.5%、海産魚用のビタミン混合5.0%、海産魚用のミネラル混合4%、魚油4.5%より成っていた。

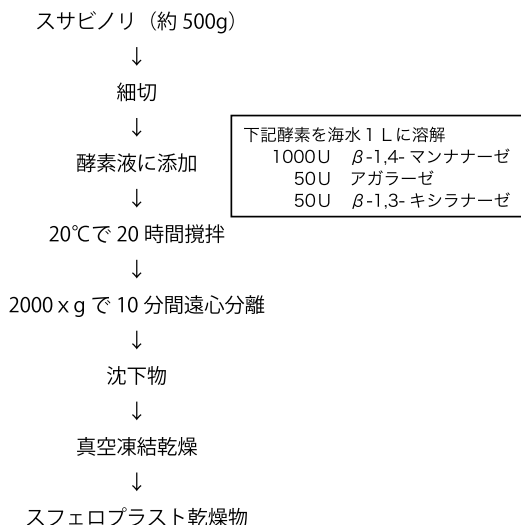


図1 スサビノリのスフェロプラスト調製法

スフェロプラストの調製は図1に示す荒木の方法⁶⁾に従った。まず正常なスサビノリを細切し、マンナーゼ、アガラーゼ、キシラーゼを溶解した酵素液に投入して20°Cで20時間穏かに攪拌する。その後2000×gで10分間遠心分離し、沈下物を回収して真空凍結乾燥した。生海苔とスフェロプラストの成分を比較すると、スフェロプラストにすることによって細胞壁が少なくなるので炭水化物含量が減少し、相対的にタンパク質と脂質の含量が増加していることが分かる。また、タウリン (Tau)、ビタミンC、カロテン、トコフェロール等も減少していた。

スフェロプラスト飼料の調製は以下の手順で行った。真空凍結乾燥したスフェロプラストは大きな塊状になっているので、ステンレス製の篩を通して荒砕きする。次に油以外の原料を混合し、目開き1mmのスクリーンを付したハンマーミル粉碎機 (富士電機工業株式会社サンプルミル KII-1 型) に2回通して微粉碎する。微粉碎品をフードプロセッサーに移し、必要量の魚油を添加して攪拌し、飼料に油を均一に吸着させる。油を添加した飼料は酸素不透過性のアルミ袋に脱酸素剤と共に密封し、使用時まで冷蔵庫にて保存した。アユ用初期飼料も同じ方法で微粉碎し、保存した。

1-2. 飼育試験

飼育試験開始前日の夕方に試験地の前浜で採取した平均体重約25gのアサリ成貝を一晩流水下に放置した後各区20個ずつ20L容プラスチック水槽に入れて飼育した。水槽の一端から砂濾過海水を流し、更にエアストーン1個を用いて通気し、溶存酸素量を確保した。飼育期間は9月11日から10月11日の1ヶ月間で、水温調整は行わなかったため、この間水温は14.8°Cから17.1°Cの間で変動し、平均水温は16.1°Cであった。給餌量は日に3gで、午前中に1.5g、午後1.5gずつ2回に分けて与えた。給餌法



写真1 飼育試験終了時の水槽の状態

は以下の通りであった。必要量の飼料をミキサー(サン株式会社ミルミキサー FM-50)のカップに入れ、適切量の海水を注ぎ、約30秒間ミキシングして完全に飼料を懸濁させる。これを飼料の流出を防ぐ為に止水状態にしたアサリ飼育水槽に添加し、2時間摂餌させた後通水を再開した。

給餌時に水槽内の水はスフェロプラスト飼料区では薄い赤紫色、アユ用初期飼料区ではやや黄色味がかかった白色に着色していた。飼育期間中水槽の掃除は行わなかった。

2. 結果

本報告の目的は両飼料の二枚貝用飼料としての効果を比較することではないので、飼育結果の詳細な説明は省略する。

飼育試験終了時の貝の生残率、活力、増肉量等に両区間で大きな違いは認められなかったが、水槽の汚れには著しい違いが認められた。写真1の様にスフェロプラスト飼料区では水槽内や貝殻上に沈殿物は殆ど無く、水槽も貝も綺麗な状態に保たれていた。一方、アユ用飼料区は残餌、擬糞、糞等が沈積しており、水槽、貝殻共に汚れが著しかった。沈殿物の表面にはカビ状の白いモヤモヤした物も生じていた。

貝殻の状態を観察すると、スフェロプラスト飼料区は開始時と同様に綺麗であったが、アユ用飼料区は貝殻表面の汚れを洗い落とすと黒い

大きな斑点が認められ、貝を商品として販売するには不適切な状態であった。貝殻に黒い斑点が出来た原因は、水槽底や貝殻上に沈積した汚れに還元層が出来、硫化水素が生じていたのではないかと考えられる。

スフェロプラスト飼料区の水槽が綺麗な状態に保たれていた理由を調べる為に水槽を観察したところ、水槽壁がうす赤く見える程に匍匐性權脚類が大量に増殖していた。この權脚類が何処から来たのかは本試験では調べなかったが、天然のアサリを一晩流水下に置いただけで試験に用いたので、恐らくアサリと共に持ち込まれたのではないかと推測した。この權脚類は水槽底、水槽壁、貝殻表面等付着出来る部分全てに存在していた。なお、スフェロプラスト飼料区においても飼育試験開始後20日目位までは写真2の様に汚れが生じていたが、その後7-10日間でこの汚れが急速に無くなり、それと



写真2 飼育20日目のスフェロプラスト飼料区

同時に權脚類が急激に増殖していた。以上の観察結果から、この匍匐性權脚類はスフェロプラスト飼料の残餌、アサリの擬糞および糞を餌として食べ、増殖したものと考えられる。また、スフェロプラスト飼料区のアサリの飼育成績が權脚類の増殖が認められなかったアユ用初期飼料区の結果と同等であったので、この匍匐性權脚類はアサリの飼育成績に悪影響を及ぼさないものと思われた。

スフェロプラスト飼料区には權脚類が大量に増殖したのに対し、アユ用初期飼料区には殆ど認められなかった。この匍匐性權脚類はササビノリのスフェロプラストやそれから生じたアサリの糞等は餌として利用出来るが、魚粉等の動物性タンパク質源や小麦粉等の陸上植物は餌として利用出来ないのかも知れない。

3. 要約

・ササビノリのスフェロプラストを主原料とするスフェロプラスト飼料と魚粉を主原料とするアユ用初期飼料でアサリ成貝を1ヶ月間水槽で飼育したところ、スフェロプラスト飼料区のみ特定の匍匐性權脚類の大量増殖が見られ、水槽内の汚れは殆ど無くなっていた。

・スフェロプラスト飼料区も飼育開始20日目までは水槽内に汚れが見られたが、その後權脚類の増殖に伴って急激に汚れが無くなった。

・本試験で増殖が認められた匍匐性權脚類は

スフェロプラスト飼料の残餌やアサリの擬糞、糞等を餌として増殖したと考えられる。

・一方、アユ用飼料区には權脚類の増殖は認められず、水槽内やアサリの貝殻上に残餌、擬糞、糞等の沈殿物で著しく汚れていた。汚れが沈積していた部分の貝殻は黒変し、商品として販売するには不適切な状態になっていた。この權脚類は魚粉や小麦粉等を餌として利用出来ないのではないかと思われた。

・ササビノリのスフェロプラストを主原料とする配合飼料で二枚貝を飼育する場合には、本試験で増殖が認められた匍匐性權脚類を共存させることによって、水槽内の汚れの問題を解決できる可能性が有る。

試験 -2

試験-1の再現性を確認する為、試験-1と同じ組成のスフェロプラスト飼料とスフェロプラストを含まない市販の二枚貝用飼料を用いてアサリ成貝の飼育試験を行った。飼育期間は10月5日から11月の5日の1ヶ月間で、水温は13.4℃から16.0℃の間を変動した。スフェロプラストの調製法や供試アサリの入手法、飼育条件等は試験-1と同じであった。

飼育試験終了時のスフェロプラスト飼料区的水槽に汚れは殆ど無く、試験-1で増殖が認められたのと同じ種類の匍匐性權脚類が増殖していた。一方、市販の二枚貝用飼料区には權脚類

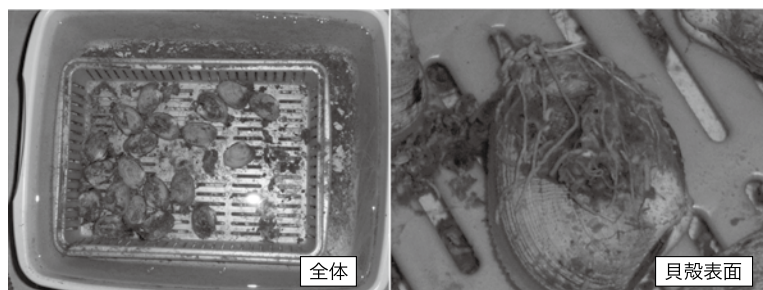


写真3 市販二枚貝用飼料区の飼育試験終了時



写真4 市販二枚貝用飼料区貝殻表面の黒斑

の増殖は認められず、水槽と貝は写真3の様に汚れていた。

右側の写真の様にアサリの貝殻上には残餌、擬糞、糞が沈着していた。細い糸状の物が糞で、その他の塊状の物が擬糞や残餌である。この沈着物を調べてみると可也粘りが強く、一度付着してしまうと多少の水流の変化などで取り除くのは難しいのではないかと思えた。また、貝殻表面の汚れを取り去ると写真4の様に試験-1と同様、貝殻が黒変して斑紋が出来ており、アサリを商品として販売するには不適切な状態になっていた。

この様に「スサビノリのスフェロプラストを主原料とするスフェロプラスト飼料区では残餌、擬糞、糞を餌として特定の匏匏性權脚類が増殖し、水槽内の汚れの問題は解決出来るが、

スフェロプラストを含まない飼料区では權脚類は増殖せず、水槽内の汚れが大きな問題になる。」と云う試験-1の結果を再現出来た。

試験-3

試験-1でスフェロプラスト飼料区に増殖した匏匏性權脚類の特徴を調べ、種類の特定を試みた。

水槽内に付着している權脚類を出来るだけゴミを入れないように注意しながらプランクトンネットで回収した。回収した權脚類は5%海水ホルマリン液で固定し、後日の調査まで保存した。外見的特徴は顕微鏡（オリンパス BH-2型双眼顕微鏡および双眼実体顕微鏡）と万能投影機（Nikon V-12型）を用いて調べた。

1. 種の推定

ホルマリン固定標本を調べると、この匏匏性權脚類は略単一の種類（後日もう1種類の近縁種が混在していることが分かったが、その数は少なかった。）からなっていることが分かった。生きた個体をホルマリン固定した標本は体が不透明で、体節や触角、脚等の微細な構造を観察し難い。ところが標本中には写真5の様な脱皮殻が多数含まれていた。この脱皮殻は透明で、顕微鏡の光量と焦点を調節することによって微

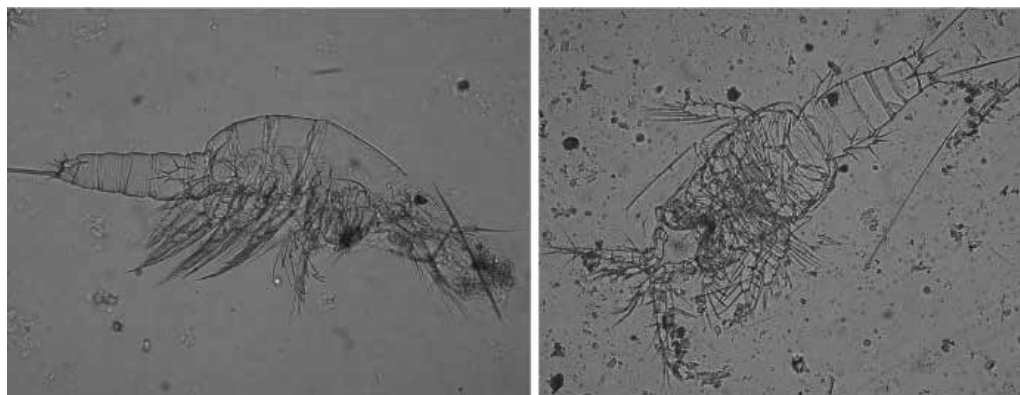


写真5 脱皮殻

細な構造まで観察出来た。よって観察は生きた個体を固定した物と脱皮殻を固定した物の両方を用いて行った。種の推定は小久保清治著「プランクトン分類学 恒星社厚生閣 1967」を参考にして行った。著者らは權脚類の分類については素人なので自信は無いが、本種は *Idya furcata* (Baird) ではないかと推測した。

プランクトン分類学より抜粋すると、*Idya furcata* (Baird) の特徴は下記の通りである。分布：本種の分布は極めて広く、ノルウェイ沿岸では至る所に発見され、海岸の水溜りまたは汽水にも産し、日本では北海道沿岸、厚岸湖などに産する。体長：雌は 1.0mm、雄は 0.65mm。雌：体はやや細長く、前体部は背面より見るときは楕円形をなす。後体部は次第に後方に細くなり、その長さは前体部の 2 分の 1。生殖節は中央部において明らかに 2 節に分かれる。叉刺の長さは殆どその幅に等しく、その頂刺毛最外方及び最内方の物は比較的短く、後者は根本にて少し内側に曲がる。第 1 触角はその長さは中位、第 2 節の長さは第 3 節より長い。また末端部の長さは第 4 節の長さの 2 倍あり、第 1 脚の外葉は内葉第 1 節より長く、内葉の第 3 節は頗る小さい。第 5 脚根本節の内側に向かう広がり丸く、先端に 3 個の刺毛がある。刺は中央の 1 個を除いて、他は頗る小さい。末端節は細長く 5 個の刺毛を有する。体色は暗緑色ないし淡黄赤色。雄：体は細長く、第 5 脚は小さく、末端節の頂刺毛中の 1 個は羽状棘となる。

この特徴がアサリ飼育水槽に増殖した匍匐性權脚類と一致していたので、*Idya furcata* (Baird) ではないかと推定した訳である。念の為、この權脚類を当時高知大学海洋生物教育研究センターに在籍しておられた岩崎望助教授に送って調べてもらったところ、種までは同定しなかったが Order: *Harpacticoida*, Family: *Tisbidae*, Genus: *Tisbe* の一種であるとのことであった⁷⁾。*Tisbe furcata* の synonym (別名) が *Idya furcata*

(Baird) なので、*Tisbe* (= *Idya furcata* (Baird)) に間違いのないであろう。

その後、この權脚類が何処から来たものであるかを調査したところ、供試したアサリ成貝を採取した場所の海藻 (アマモ科の 1 種、エゾヤハズ、ツノマタ) から同種が見つかった (特にアマモ科の 1 種に個体数が多かった) ので、アサリに付着した個体あるいはアサリに混入したアマモの断片と共に試験水槽内に持ち込まれた可能性が高いのではないかと考える。

2. 体長他の測定

体長は以下の方法で測定した。ノープリウス期以外の 200 個体の頭頂から尾叉までの長さを万能投影機で測定した (写真 6)。300 μ m 以下の個体は認められなかったため、300 μ m から 100 μ m 刻みで組成比を調べた。結果を図 2 に示す。600 - 700 μ m が 19.5%、900 - 1000 μ m が 27.0% と二つのピークが認められた。900 - 1000 μ m の個体は雌ばかりであったが、600 - 700 μ m の個体は雄と雌が混在していた。この結果は小久保が記述している成体の雄：0.65mm、成体の雌：1.0mm と良く一致していた。なお、雄雌の判断は以下によって行った。雄：雌に比較して体全体が細長くて小さい。性成熟個体は第 1 触角が湾曲し、雌の把握器官になっている (写真 7 左)。未成熟個体も雌とは第 1 触角の

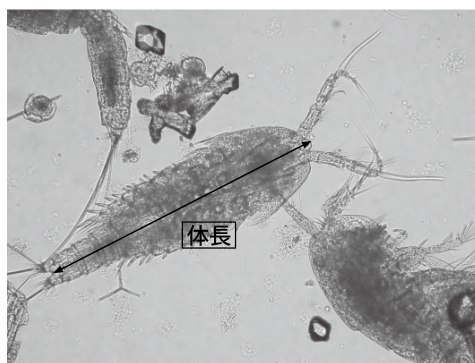


写真 6 体長の測定部位

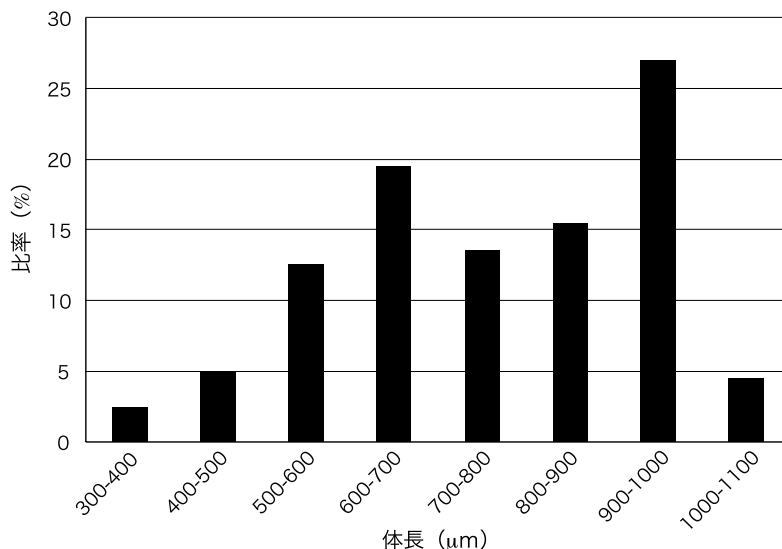


図2 櫛脚類の体長組成

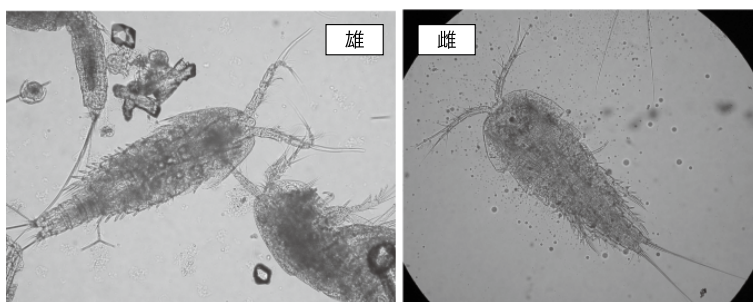


写真7 雄と雌の違い

構造が違う。雌：雄に比較して体全体が丸くて大きい。第1触角は直線状である（写真7右）。性成熟個体は体外に卵を有している（写真8）か、あるいは繫卵していた痕がある。また、未成熟個体でも発育ステージによっては体内に卵

が認められる場合がある。

観察した200個体のうち33個体が卵を有しており、繫卵率は16.5%であった。繫卵個体の最小個体は840μmであったので、生物学的最小型は840μm程度ではないと思われる。最大個体は1050μmであった。また、840μm以下の個体でも頭胸部内に明らかに卵と判別できる物を多数有した個体が認められた。この卵が十分に熟すれば体外に排出され、繫卵されるのであろう。



写真8 繫卵個体

繫卵雌1個体当たり何個の卵を有するかを以下の方法で調べた。スライドグラスに載せた繫卵個体をカバーグラスで軽く押し、写真9の様に卵塊の卵1個1個を分離させ、顕微鏡下で卵を計数した。供試個体は10個体であった。最小

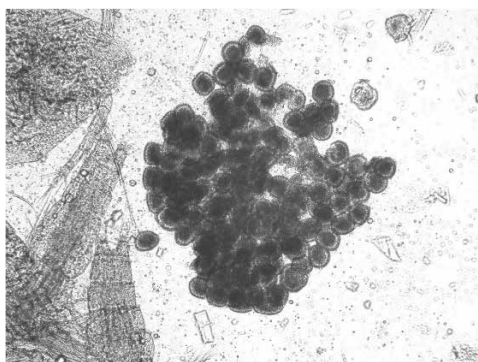


写真9 卵数の測定

卵数は86個、最大卵数は149個で、平均卵数は113個/個体であった。生み出された卵の孵化率や孵化に要する時間等は調べていないが、1個体が有する卵数が非常に多いことから、本種の増殖力は強く、条件さえ良ければ急激に個体数を増やすのではないかと思われた。

試験-1, 2以外にも数回の試験を行ったが、水槽内の汚れが殆ど無くなるほど本種が増殖した水温は10 - 18℃の間であった。但し18℃以上での試験は行っていないので、18℃以上でも大量増殖出来る可能性は有る。また、並べた水槽のうち最も明るい場所に置いた水槽で増殖が著しい傾向が認められたので、本種の増殖には光あるいは一定以上の照度が必要なのかも知れない。

井上ら⁸⁾は100mlの海水を入れた透明管ビンに交尾状態の *Tisbe furcata* 一つがいを入れ、海水馴化クロレラを餌として15℃、20℃および25℃で増殖特性を調べ、以下の点を明らかにしている。

- ・数日間の交尾行動後、雌は1 - 2日で30 - 40個の卵を抱卵する。

- ・卵の孵化日数は15℃で7 - 10日、20℃で5 - 9日、25℃で3 - 5日となり、飼育水温が高くなるにつれて短くなる。

- ・水温15℃、20℃ではノープリウス幼生は7 - 8日にして交尾する成体（雄450μm、雌

750μm）になる。

- ・孵化後幼生から成体になり、産卵するまでに至る日数は14日前後と推定される。

- ・ *Tisbe furcata* の増殖にはCl=15 - 19‰の海水が適している。

- ・ *Tisbe furcata* の生育、増殖に利用されるクロレラの細胞個体数は0.5 - 1.0 × 10⁷/ml程度が適切である。

井上らの報告と本試験の結果を比較すると、先ず卵数が著しく違う。卵数は雌個体の栄養状態によって変化すると考えられるので、*Tisbe furcata* の餌としては海水馴化クロレラよりササビノリのスフェロプラストの方が適しているものと思われる。また、20℃と25℃でも増殖することが明らかにされているので、本種は18℃以上でも増殖出来ることや、照度は300 - 8000Luxで特に問題無いことも分かった。本試験ではノープリウス幼生以外に体長が300μm以下の個体は認められなかったが、これは井上らの20℃あるいは25℃で30日以上飼育した時の結果と一致していた。

井上らの試験は極少量の水量で、しかも止水下での試験であった為、高水温では問題が生じている様であるが、本試験では20Lの容器を用い、15 - 17℃と比較的低水温の水を流水にしていたので環境の悪化が防げたのではないかと思われる。大型水槽で長期間安定的に本種を増殖させる為には、餌と環境の両方の条件を十分に考慮する必要が有るものと思われる。

残念ながら本種の体成分分析を行うことは出来なかったが、近縁種であるチグリオプス (*Tigriopus japonicus*) の成分から推測し、本種も海産魚や甲殻類の種苗生産時の生物餌料として優れているのではないかと思われる。また、本種の大きさは海産魚や甲殻類の初期餌料として適切であることや、増殖力も強いと思われること等から、二枚貝の飼育水槽から本種のみを分離し、スフェロプラスト飼料を与えて安定的



写真10 ノープリウス幼生

に大量培養出来れば、アルテミアや海域から採集した天然プランクトンに代わる生物餌料になり得るのではないかと考える。

一般的に考えれば、発育ステージ別の組成は成体よりも幼生の占める割合の方が高くて当然であるが、結果は逆であった。これはノープリウス期には匍匐性（付着性）ではなく遊泳性なので、水流によって水槽外に排出される事の一つの原因が有ったと思われる。また、本種は常時物に付着しているのではなく、時折水槽壁を離れて遊泳しているのが観察された。当然幼生は付着力や遊泳力が成体より弱く、水流に流される確率が高いことも関係したものと考えられる。アサリの飼育試験中は給餌後の止水時間以外は常時水を流していたので、ノープリウスや幼生の可也の部分が流出したのではないかと推測する。

ノープリウス幼生（写真10）の大きさも成体と同じ方法で20個体を用いて測定した。最小個体は55 μm 、最大個体は65 μm で、平均は61 μm であった。この値はS型のシオミズツボワムシ（約250 μm ）より小さい。もしこのノープリウス幼生のみを多量に集めることが出来れば、種苗生産の初期にシオミズツボワムシより小型の餌料を必要とする魚や甲殻類の優れた餌になり得るのではないかとと思われる。

3. 要約

- ・スフェロプラスト飼料投与区で大量に増殖

した匍匐性權脚類は *Tisbe* sp. であった。

- ・ノープリウス幼生の最小個体は体長55 μm 、最大個体は65 μm で、平均61 μm であった。

- ・ノープリウス期以外の個体では体長300 μm 以下の個体は認められず、900 μm 以上の個体は全て雌で、最大個体は1050 μm であった。600－700 μm の個体には雄と雌が混在していた。

- ・繁卵個体の率は16.5%で、繁卵個体の最小個体は体長840 μm であった。

- ・繁卵個体1個体当りの卵数は最少が86個、最多が149個で、平均113個であった。

- ・本種が著しく増殖した水温は10－18 $^{\circ}\text{C}$ であった。但し、18 $^{\circ}\text{C}$ 以上の水温では試験していないので、18 $^{\circ}\text{C}$ 以上でも増殖出来る可能性は有る。また、増殖に一定以上の照度が必要である可能性も有る。

- ・1個体が有する卵数が非常に多いので、本種の増殖力は強く、環境条件さえ良ければ急激に個体数を増やすのではないかとと思われる。

- ・供試アサリ採取地の海藻に本種の付着が認められたので、アサリあるいはアサリに混入していた海藻の断片と共に試験水槽に持ち込まれた可能性が高い。

まとめ

植物細胞に何らかの処理を行って海産魚や甲殻類の種苗生産時に必要な生物餌料の餌とする試みは既に幾つか行われている。

古くは北川ら⁹⁾が海産クロレラ（ナンノクロロプシス）をスプレードライ、超音波処理、摩砕処理、細胞壁溶解酵素処理等を行うことによって細胞壁を破壊し、水和後にリン酸、ステロール、糖脂質、ジセチルリン酸等を添加して高圧ホモジナイザーあるいはポリトロンホモジナイザーで分散処理した物がアルテミアの餌となり得ることを見出し、アルテミア用飼料として製品化している。更に北川ら¹⁰⁾は、このア

ルテミア用飼料を用いてアルテミア孵化幼生の高密度養成法を研究し、従来は粗放的な方法でしか養成出来なかった色々な大きさのアルテミア幼生を小さな容器で大量に生産する方法を確立している。

吉松ら¹¹⁾は無利用あるいは低価格アマノリから調製されたプロトプラストの動物プランクトン培養用飼料材としての有効性を検討し、プロトプラストはタマミジンコの培養餌料として有望であり、高い餌料価値が期待出来ることを報告している。また、天然の橈脚類（インドネシア産のハルパクチクス目の1種と思われる未同定種）ではナンノクロロプシス単用に比べてプロトプラストを併用すると増殖が向上することと、プロトプラスト単用の場合でもナンノクロロプシス単用では認められなかった培養密度の維持が可能であったことも明らかにしている。

内田¹²⁾はマコンブとアオサを用いて物理的に処理して単細胞性の粒子を多く含むと考えられる画分を分取してアルテミアに投与したところ、高い飼料効率を示すことを報告している。また、アルテミアが捕食できない大きなサイズ（105 - 177 μ m）のマコンブ懸濁液を海洋細菌で分解処理したところ、飼料効率が約5倍に増

大することも合わせて報告している。

この様に単細胞藻や海藻を物理的処理や化学的処理によって小型化し、細胞壁を傷付けたり溶解したりすることによって生物餌料が餌として利用出来るようになることは従来から知られていたもので、本試験でスナビノリのスフェロプラストを投与した区に匍匐性橈脚類が大量に増殖したことは不思議ではない。

吉松が報告書¹¹⁾の中で述べている様に、自然状態では多くの海産魚の仔稚魚は橈脚類やその幼生を餌料として摂取し、成長していくことが知られている。したがって天然橈脚類の培養技術の確立が多方面から求められてはいるが、培養に利用可能な餌や装置の開発がまだ十分に行われておらず、結果として種苗生産への利用の道はまだ実質的には開かれていない。

これらの報告と本試験の結果を併せ考えると、図3に示すような二枚貝と橈脚類の混合飼育のイメージが湧いてくる。

二枚貝を配合飼料を用いて事業規模で陸上飼育しようとするすると残餌、擬糞、糞による水槽内の汚れによって色々な問題が生じてくる。この汚れの問題は処理海藻を含む飼料を用いて特定の橈脚類と混合飼育することによって解決出来る可能性が有る。橈脚類がこの汚れを餌として

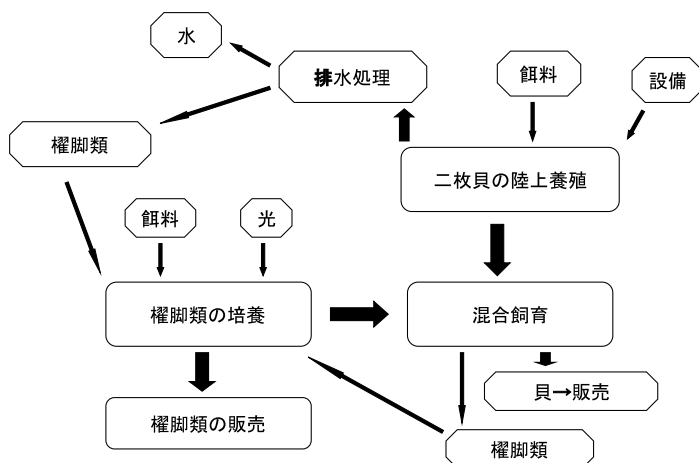


図3 二枚貝と橈脚類の混合飼育のイメージ図

食べ、増殖するので水槽は綺麗になる。この橈脚類を単離して二枚貝用に開発した飼料で高密度培養出来れば、橈脚類は橈脚類で海産魚や甲殻類の種苗生産に必須の生物餌料として利用出来るであろう。従来の試験と本試験では海産の橈脚類は何れも匍匐性の種であったが、未だ培養が出来ていない浮遊性の橈脚類にも応用出来れば更に利用価値が高まる。更に、この方法が確立出来れば二枚貝の陸上飼育時に生じる排水処理も必要無くなる可能性が有る。

また、残餌、擬糞、糞等を餌として利用出来

る生物であれば二枚貝と混合飼育するのは橈脚類に限る必要は無い。海底や岩上の付着物を舐め取ったり、齧り取って食べる食性の生物、例えばナマコや巻貝等も利用出来るのではないかと思われる。混合飼育する生物が高価な種類であれば更に良い。

この様に藻類を処理した原料を含む飼料、二枚貝、残餌と二枚貝の擬糞や糞を餌として利用出来る生物等を組み合わせれば今後面白い展開が出来るのではないかと夢が膨らむ。

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

- 1) 酒本秀一, 大橋勝彦:二枚貝用飼料-1. *New Food Industry*, **55(5)**,53-62 (2013)
- 2) 酒本秀一, 大橋勝彦, 仙石義昭:二枚貝用飼料-2. *New Food Industry*, **55(6)**,79-90 (2013)
- 3) 酒本秀一, 大橋勝彦, 仙石義昭:二枚貝用飼料-3. *New Food Industry*, **55(7)**,67-79 (2013)
- 4) 香川芳子:食品成分表 2012. 女子栄養大学出版会, 東京, 114-115 (2012)
- 5) 安本教傳, 渡邊智子, 安井明美, 西牟田守, 竹内昌昭:日本食品標準成分表 II 脂肪酸成分表編. 第1出版, 東京, 128-129 (2007)
- 6) 荒木利芳:プロトプラスト単離技術. 有用海藻のバイオテクノロジー (水産学シリーズ No.113 能登谷正浩編), 恒星社厚生閣, 東京, 62-72 (1997)
- 7) 興梠康大:北海道風連湖周辺に棲息するカイアシ類 *Tisbidae* sp. の分類および分布に関する研究. 高知大学動物分類生態学研究室卒業論文 (2007)
- 8) 井上元男, 青木光義:海水馴化クロレラを餌料とした橈脚類 *Tisbe furcata* の増殖. 日本水産学会誌, **35(9)**, 862-867 (1969)
- 9) 北川清弘, 瀬戸明, 酒本秀一, 野沢卓爾:アルテミア用飼料. 特願 昭 60-227977 (1985)
- 10) 北川清弘, 瀬戸明, 酒本秀一, 野沢卓爾:アルテミアの高密度養成方法. 特願 昭 61-63701 (1986)
- 11) 吉松隆夫, 荒木利芳, 酒本秀一:酵素処理によるアマノリ無利用資源の有効活用に関する研究. 農林水産省農林水産技術会議 平成 16-18 年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業 研究成果報告書, (独) 水産総合研究センター, 78-80 (2007)
- 12) 内田基晴:ミニシンポジウム記録 海藻類の単細胞化とその産業利用 発酵処理による褐藻, 緑藻の単細胞化技術. 日本水産学会誌, **73(5)**, 948-949 (2007)

“地域密着でキラリと光る企業”

納豆一筋『あづま食品株式会社』

田形 暁作*

*TAGATA Yoshinari (TAGATA 食品企画・開発 代表)

Key Words: 納豆・伝統食品

はじめに

あづま食品株式会社は創業 60 年になり、おいしい納豆づくりにこだわり続けてきた。昭和 20 年代のはじめに創業者である先代の会長黒崎達也氏が当時東北で食した納豆の味に感銘を受けたことから始まった。今までに食べたことのない味わい深い納豆は、それまでに納豆などつくったことがない創業者に安定した職からの脱サラを決意させてまでも「この納豆の味を多くの人に食べてもらいたい、そして日本で一番おいしい納豆をつくりたい」という熱い想いに変えた。そして、昭和 25 年（1950 年）8 月、創業者夫婦を中心に、想いを共有する従業員 6 名で栃木県宇都宮市の自宅に「あづま納豆店」を創業した。あづま納豆店は昭和 56 年（1981 年）にあづま食品株式会社に発展し、現在の場所にて本社工場を新設、それとともに北関東中心であった販路を全国に拡大、業績の向上と共に西日本や東北での工場操業も始めた。

1. 納豆の起源

納豆の誕生には様々な説があるが、いずれにしても「煮豆」と「藁（わら）」の出会いがきっかけだったと考えられている。弥生時代から、

日本には大豆も藁もあったことから（藁は竪穴住居に敷き詰められていた）、この時代にはすでに納豆は食べられていた可能性がある。記録に出てくるものとしては、藤原明衡の『新猿楽記』（1052 年頃）に、好きな食べ物の一つとして「塩辛納豆」が記載されているのが最初のものである。

2. 納豆の概要

大豆を納豆菌で発酵させた発酵食品である。日本全国の食品売り場で容易に手に入れることができ、現在多くの日本人に食べられている。総務省統計局の全国物価統計調査の調査品目にも採用されている。茨城県、福島県、栃木県を中心とした関東地方・東北地方では郷土料理としても親しまれている。製法や菌の改良などで匂いを少なくしたり、含まれる成分の内「ナットウキナーゼ」の健康増進効果がテレビなどのメディアで伝えられるようになり、この 40 年間を見ても国内各地での消費量の差（一番少ない近畿・中国・四国と福島・水戸など一番多い地域との差）は大きく縮まっている。「納豆の日」は 7 月 10 日とされている。これは 1981 年、関西での納豆消費量拡大のため、関西納豆工業組

合がなっ (7) とう (10) の語呂あわせで制定したものであり、1992年、全国納豆工業組合連合会が改めて「納豆の日」として制定した。

3. 納豆の名称

納豆は元来精進料理として納所（なっしょ、寺院の倉庫）で作られた食品で、これが名前の由来という説が「本朝食鑑」（人見必大著、1967年、元禄10年発行）という書物に掲載されている。納所に勤めていた僧侶が納豆造りをしていたので、納所の字をとって「納豆」になったという。また、『新猿楽記』の中で「精進物、春、塩辛納豆」とあるのが初見で、この『猿楽記』がベストセラーになったことにより、納豆という記され方が広まったとされる。

4. 納豆の種類と作り方

1) 糸引納豆

現在の主流の納豆は糸引納豆である。「煮豆」と「藁」の菌がたまたま作用し、偶然に糸引納豆ができたと考えられている。戦国時代には武将のタンパク源やスタミナ源ともなっていた。また、江戸時代では、京都や江戸において「納豆売り」が毎朝納豆を売り歩いていた。戦時中は軍養食として、戦後は日本人を救う栄養食として食べられた。作り方は、蒸した大豆を稲の藁苞（わらづと）で包み、40℃程度に保温し約1日ほど置いておく。稲わらに付着している納豆菌が大豆に移行し、増殖することによって発酵が起こり、納豆が出来上がる。近年では、大量生産の要求に応えるため、あるいは伝統的な製法を行うにあたり良質の藁を確保すること等が困難なこともあり、純粋培養した納豆菌を用いる製造が主流である。まず、蒸した大豆に純粋培養した納豆菌の分散液をかける。次いで、これを発砲スチロール容器や紙パックに充填

し、適温で保温すると、納豆菌が増殖し発酵する。流通段階での発酵の進み具合も勘案し、適度な発酵に至った段階で、消費期限やブランド銘が記された包装を施し出荷する。

2) 塩辛納豆

塩辛納豆もしくは寺納豆・浜納豆とは、現在一般的な糸引納豆との区別をつけるための便宜上の名称である。現在「納豆」といえば納豆菌を発酵させたいいわゆる糸引納豆を指すのが一般的だが、糸引納豆が登場したのは中世以降のことであり、それ以前の定義で「納豆」とは麹菌を使って発酵させたのち乾燥・熟成させたものであった。風味としては味噌や醬（ひしお）に近い。塩辛納豆は古い漢語では豉（し）と呼ばれ、中国では紀元前2世紀頃の遺跡からも出土があり、今なお豆鼓（トウチ）と呼ばれ、中華料理の重要な調味料である。日本では奈良時代頃に醬の一種として伝来してきたのではないかとされ、古い資料では「久喜」（くき）の名で呼ばれているが、平安時代には「納豆」という名でも呼ばれるようになった。これは平安時代以降姿を消している。

3) ひきわり納豆

ひき割り、すなわち砕いた納豆を発酵させることによって作られる納豆である。秋田県などの北東北で古くから作られていた糸引納豆の一種。普通の納豆より発行が早く、消化が良いとされる。ひきわり納豆に対し、割っていない大豆を使った納豆は「粒納豆」「つぶ納豆」と呼ばれる。

5. 納豆の栄養・効果

血液凝固因子を作るのに不可欠なビタミンKや大豆由来のタンパク質が豊富にあり、現在でも上質なたんぱく質源ともいえる。食物繊維は100グラム中に4.9～7.6グラムと豊富に含まれる。食物繊維はオリゴ糖等と共にプレバイオ

ティクスと呼ばれる腸内環境に有用な成分であり、納豆菌はプロバイオティクスと呼ばれ、これも腸内環境に有用と考えられている。O157を抗菌することがわかっている。納豆には殺菌作用が認められ、抗生物質のない昔は、赤痢、チフスなどの伝染病に対し、納豆が一種の薬として使われていた。病原性大腸菌あるいはサルモネラ菌に対する抗菌作用も立証されている。納豆には血栓を溶かす酵素が含まれており、納豆から単離したナットウキナーゼを経口投与したイヌで血栓の溶解が観察されたという報告がある。納豆に含まれるビタミンKは骨タンパク質の働きや骨形成を促進することから、ビタミンK₂を多く含む納豆が、特定保健用食品として許可されている。また、ポリグルタミン酸にはカルシウム吸収促進効果があるため、納豆から抽出されたポリグルタミン酸が特定保健用食品として許可されている。納豆菌の一部には、安定した効果があることから、そのような効果を持つ納豆が特定保健用食品として許可されている。

6. 納豆の市場状況 (平成23年度家計調査年報から)

1) 年度別支出金額推移

納豆の2人以上世帯の支出金額推移を1988年(昭和63年)から2011年(平成23年)を図1に示した。1988年から順調に推移し、1998年には4,097円にまで成長した。さらに、2002年には4,200円となりピークになった。それ以後は毎年低下傾向にある。

2) 年齢別支出金額

年齢別支出金額を表1に示した。全体的には69歳までは年齢が高くなるにつれ、支出金額

表1 平成23年度 年齢別支出金額(2人以上世帯)

年齢	支出金額(円)
平均	3,295
～29歳	2,246
30～39歳	2,874
40～49歳	3,041
50～59歳	3,341
60～69歳	3,631
70歳以上	3,448

出所；家計調査年報 平成23年度

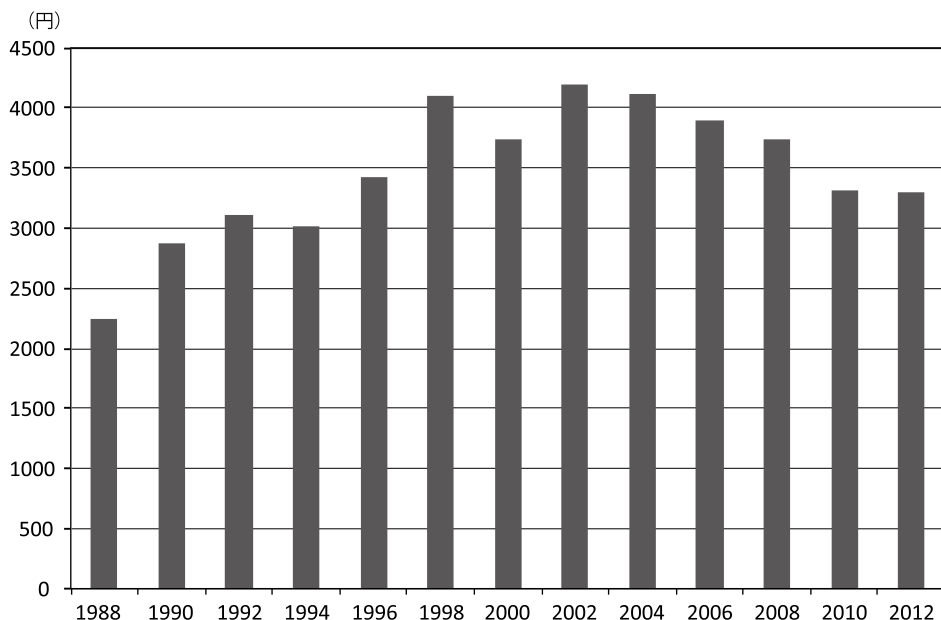


図1 納豆支出金額 (2人以上世帯) 出所；家計調査年報 平成23年度

が増えている。この要因は家族人数と健康意識にあると推察する。70歳以上は家族人数が影響していると推察する。

3) 収入別支出金額

収入別支出金額を表2に示した。収入との関係は300万円以上では殆どないと推察する。納豆の1個当たりの価格が安価であることと食生活に欠かせない商品であることを示している

表2 平成23年度 収入別支出金額(2人以上世帯)

収入(円)	支出金額(円)
平均	3,295
～3,370,000	2,852
3,370,000～4,480,000	3,325
4,480,000～5,900,000	3,133
5,900,000～8,150,000	3,439
8,150,000～	3,727

出所；家計調査年報 平成23年度

7. あづま食品株式会社の会社概要

あづま食品株式会社は昭和25年(1950年)8月創業、昭和48年7月に会社を設立した。資本金は9,000万円、従業員は332名である。本社は栃木県宇都宮市下田原町にあり、事業所は東京に営業本部があり全国に13営業所がある。生産工場は4工場あり、栃木に2工場、三重、郡山に1工場ある。事業は納豆の製造販売のみである。

8. あづま食品のあゆみ

1950年	8月	■あづま納豆店を宇都宮市で創業。
1973年	7月	■あづま食品有限会社を設立。
1975年	5月	■茨城県北西部一帯で栽培していた極小大豆を栃木県に導入。農協を通じて契約栽培方式をとり、農家と共存共栄体制をつくる。

1975年	9月	■創業満25年を経過。これを機に事業拡大をはかる。全国納豆のモデル工場として農林省ならびに栃木県食品工業指導所などの研究開発のもとに完全自動方式を採用。第一期生産設備、日食10万食の能力をもつ工場を完成する。
1980年	5月	■創立30周年を迎えて長期目標計画を立案。現在の成長過程において、個々の能力と努力だけで今日があるかのような錯覚を深省し、まずは社員教育の徹底をはかる。原則はあくまでもお客様第一主義であり、製品開発に力を注ぐことによって、将来納豆メーカーとして生き残れる努力を全社員を挙げて実行する。
1981年	3月	■組織を変更し、社名をあづま食品株式会社とする。
	11月	■農林水産省主催の食品産業センター会長賞を受賞。優良地場産業として認定される。
1990年	4月	■商品開発室を開設。
	8月	■創立40周年を迎え、長期経営計画を策定。
1993年	6月	■関西、北陸、東海地区の拠点として三重工場を建設。操業開始。
1997年	1月	■栃木工場生産設備増強。
	12月	■関堀工場業務用納豆製造専用工場として新築創業開始。
2000年	3月	■前年に引き続き、新技術・新製品開発部門で食品産業センター会長賞を連続受賞。
	12月	■有機農作物に関する日本国内の有機JAS法が施行されるに伴い、国内のオーガニック検査認定機関JONA(日本オーガニック&ナチュラルフーズ協会)の認定を受ける。
2001年	3月	■農林水産省主催の優良ふるさと食品中央コンクールにおいて、新技術・新製品開発部門で3年連続の食品産業センター会長賞を受賞。
2006年	10月	■東北地区の拠点として、郡山工場操業開始。

9. あづま食品の経営理念

“おいしい納豆をつくって喜ばれること”
 創業者の熱い想いは今も私たちの原点です。

社是	お客様の立場で考え行動せよ
社訓	そのために誠実であれ そのために努力せよ そのために創造せよ そのために挑戦せよ

10. 納豆の製造

「素材へのこだわり」

1) 国産大豆

私たちの納豆づくりは畑づくりからはじまります。

日本各地の選びぬいた土地で契約農家の方々とともにじっくり手間と愛情をかけてこだわりの国産大豆を育てています。

あづま食品が販売する商品の40%以上は国産大豆を使用している。数ある品種の中から“おいしいあづま納豆”に相応しい国産大豆を見つけだし、その育成に適した気候や風土の中で良質な土壌を整え、契約農家の方々とともに一粒一粒を大切に育てている。理想の納



豆をつくるためには、大豆本来のおいしさと栄養成分を損なわず育成できる肥沃で健やかな土壌と豊かな自然環境が必要不可欠である。本物のおいしさはこの自然の中で生まれると考えている。

2) 良質の地下水の水脈を求めて

おいしい納豆をつくるうえで、大豆と同じくらい重要なものが水である。良質の地下水は主に大豆の浸漬工程で使われ、納豆の味の重要な決め手になっている。あづま食品はこの地下水の水脈を求め、全国的に名水と名高い日光水系の地・栃木県と三重県いなべ市に主要工場を建設した。そこは雄大な山々と深い森に降った雨や雪が、地中を長い時間をかけて地下水となってでてくる。従って、自然の恵みのミネラル成分を適度に含んでおり、納豆製造にはとても重要な役割をはたしている。

3) 製造プロセス

余計なものを一切入れない大豆と水と納豆菌だけでつくる昔ながらの製法が本物のおいしさを生み出す。



①原料大豆の搬入
各地で収穫された原料大豆を搬入。搬入までは、業者の低温倉庫で保管されています。



②原料大豆の選別、水洗い
大豆以外の異物を除去。選別された大豆をジェット水流で洗います。



③浸漬
浸漬タンクに入れ、15°Cの地下水に漬します。丸大豆で18～20時間、ひきわり大豆で3～5時間をかけて、じっくり水を吸わせませす。



④蒸煮、納豆菌の噴霧
たっぷり水を吸った大豆を釜で蒸します。蒸しあがった大豆に、納豆菌を均一に噴射します。



11. 研究・開発

一般的に水には「硬水」「軟水」があるが、ミネラルが多い硬水は納豆製造においては苦味、渋味の原因に繋がる。逆に、硬度が低いとあっさりしすぎて納豆の旨みを感じられない。納豆用として最適な硬度の水が、あづま食品で使用している水である。硬度50度弱の、納豆の旨みを引き出すのに適した水を使用している。また、原料は大豆と水と納豆菌のみなので、大豆の特徴がそのまま納豆の美味しさに繋がる。古くから納豆用の大豆として親しまれてきた在来種である納豆小粒（なっとうしょうりゅう）の、ラフィノース、スタキオースをはじめとする種々の成分を分析し、これらの成分を元に判断して多くの大豆品種改良を進めてきた。これら大豆の特徴を活かした、美味しさを引き出すための浸漬・蒸煮・発酵の条件を、長年の製造経験で蓄積することで現在の品質、おいしいあづま納豆を提供してきた。これからも、更なる美味しさの追求は止むことはなく、納豆

一筋の会社としての使命と考えている。

12. 商品紹介

あづまの納豆は、厳選した大豆と良質な地下水と納豆菌だけで出来ている。納豆ひとすじ60年、「昔ながらの製法」にこだわり、じっくり手間をかけてつくられた、自然のままの新鮮なおいしさを届けている。

■家庭用商品

全国のスーパーマーケット、百貨店などに販売している。

●舌鼓



あづま食品のこだわりの逸品。納豆用大豆として昔から栽培されてきた品種「納豆小粒（なっとうしょうりゅう）」を使用。

しっかりとした食感と大豆の深い味わいを楽しめる国産大豆納豆。

●黒豆小粒なっとう



希少な国産“小粒”黒大豆を使用。黒豆独特の風味と甘みが味わえる。通常の納豆に比べると粘り・香りが少なく、さっぱり食べやすい納豆。黒豆はかたいと思われがちですが、小粒大豆で食べやすくふっくらと仕上げています。わさび付きで、黒豆の風味を引き立てる。

わさび付きで、黒豆の風味を引き立てる。

●おろしだれ納豆



フレッシュな大根おろしがたっぷり入ったたれで食べる、さっぱりとした食感の納豆。納豆の消費量が少ない西日本においても人気が高く、発売

から12年目のロングセラー商品。

●有機なっとう



原料大豆の栽培から納豆の製造まで、厳しい検査をクリアした「有機JAS認定」の納豆。2年以上有機肥料で土作りをした畑で、化学肥料・化学農薬を使用せずに栽培された、遺伝子組換え品種ではない『有機大豆』を使用している。添付調味料は、化学調味料・保存料・着色料を不使用の、たれ・からし付き。

化学農薬を使用せずに栽培された、遺伝子組換え品種ではない『有機大豆』を使用している。添付調味料は、化学調味料・保存料・着色料を不使用の、たれ・からし付き。

■業務用商品

様々な用途に合わせた、業務用の納豆を販売している。

●チューブタイプ納豆



納豆巻きなど各種調理向けのチューブタイプ。どなたでも簡単に、均等な量を搾り出せる。冷凍出荷ですので使用時に合わせてお使い頂ける。

* 国産ひきわり納豆 300g

納豆巻き用途に需要の高いひきわり納豆を、国産大豆100%使用で作った。

●小袋タイプ納豆



およそ1食分の、35g小袋タイプ。使用したい時に解凍して使える、便利な個食納豆。

* 小袋納豆 35g

料理に合わせて、「極小

粒」「ひきわり」の2タイプがある。

●カップ納豆



給食、レストラン、ホテル朝食などに向けたカップタイプ。

おわりに

あづま食品株式会社は納豆一筋で創業以来60年以上の長きにわたり営業をされ、消費者に信頼されてきた会社である。常に、消費者に喜んでいただくために、おいしい納豆作りに注力されてきた。そのための原点は社是にあるように”お客様の立場で行動すること”，その行動指針は・誠実であれ、・努力せよ、・創造せよ、・挑戦せよである。また、納豆を作る前に、納豆の原料である大豆を育てる土地選びから始まり、大豆の栽培に理想的な気候・風土までも考慮しておられる。納豆の原料は大豆と水と納豆菌だけである。この水もこだわりがあり、あづまの納豆に適した水を求めて工場を建ててきた。これぞ、素材にこだわり、納豆一筋に会社の命運をかけてこられた姿勢を伺うことができた。納豆には、人の健康に貢献する栄養成分が多く含まれている。とくに、最近、生活習慣病といわれている血栓の溶解に寄与する成分も明らかになってきている。また、骨粗しょう症の原因である骨密度低下を抑える効果も明らかになっている。その他、色々な生活習慣病への効果が報告されている。このためには、一層おいしい納豆作りが重要である。今後も、一層、お客様のために良き物作りに励んでいただくことを、消費者の一人としてお願いしたい。

[資料]

- 納豆 Wikipedia
- 食品加工シリーズ 5. 納豆 渡辺杉夫著 発行所, 社団法人 農村漁村文化協会 2002年3月20日第一刷発行
- 納豆の科学, ー最新情報による総合的考察ー 編著 木内幹, 永井利郎, 木村啓太郎, 発行者 筑紫恒男, 発行所 株式会社建帛社 2008年3月10日 初版発行
- 解明された納豆パワーの秘密 納豆は効く, 著者 医学博士 須見洋行, 発行者 高濱宏次, 発行所 ダイナミックセラーズ出版 第2刷発行 2010年5月27日
- 永山久夫, 特製 元祖納豆万歳, 著者 永山久夫, 発行者 宮城徹人, 発行所 株式会社一二三書房 2004年6月1日, 初版第一刷

[参考資料]

1. フリー百科事典『ウィキペディア (Wikipedia)』納豆

白石カルシウムの炭酸カルシウム	
	古くから食品に使用されている安全性・吸収性に優れたカルシウム源です。用途も栄養強化はもちろんのこと、練製品の弾力増強などの品質改良、粉体の流動性向上・固結防止といった加工助剤などその目的は多彩です。
	分散性・混合性に優れたものや、飲料用として沈澱を抑制したタイプ等、品揃えしております。
	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

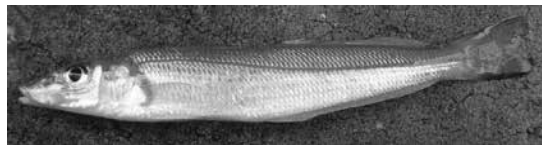
築地市場魚貝辞典（シロギス）

梅雨が終わり夏本番の築地市場。朝から照りつける日差しがきつい晴海通りを、築地へ向かう。日陰を選んで歩くのであるが、道路改修の時に植えられたケヤキがいくぶん育って日陰が増えたのはありがたい。場内に入れば大屋根で日はさえぎられてはいるが、蒸し暑さはいかんともしがたい。豊洲の新市場への移転が1年遅れて平成27年になりそうであるが、新市場の夏は、どんな夏になるのであろう。



日差しが照りつける築地

今回は夏の魚、シロギスを紹介する。



シロギス

—分類—

一般に「きす」と呼ばれる魚は、シロギスである。シロギスは、もともとふつうの魚であるスズキ目の中の、キス科の魚である。キス科には複数の属があるが、ほとんどはキス属でシロギスもキス属になる。キスらしいキスの1つと言える。キス科は、ニベやヒメジが近い仲間と考えられている。キス科の魚は世界におよそ31種、日本にはシロギスを含め5種が分布している。この5種のうち、ふつう食用として流通するのはシロギス1種である。

—形態—

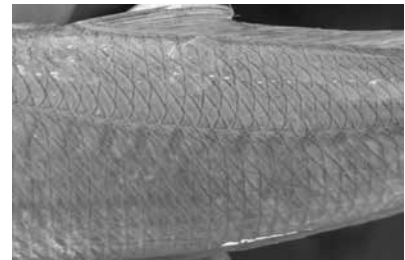
シロギスは小ぶりの魚ではあるが、頭の付いた丸のままで売られていることは少ないので、釣りをされない方は、姿を思い浮かべるのが

難しいかもしれない。体は細長く、断面は丸い。体が長いため、頭は小さく見える。眼はやや大きい。小さい口は、やや下向きについて、斜め下に向かって突き出すことができる。体の表面は、細かな鱗で覆われる。背鱭は2つあり、前より（第一背鱭）はやや硬いトゲ（棘）、後ろ（第二背鱭）は柔らかい軟条でできている。

模様はなく、全体に光沢がある。背中側は淡い褐色で、腹側は白い。腹鱭と臀鱭は白く、背鱭と尾鱭は透き通っていて、模様はない。体長 27cm を越える。



顔



体の側面

—生態—

北海道から九州，東シナ海，南シナ海まで分布する。水深 30m より浅い沿岸の砂泥底に住み，海底近くを泳いでいる。単独，もしくは小さな群れを作る。水中で観察すると，白い色が周囲の砂の色に溶け込んで，非常に見つけにくくなっている。やや神経質で，大きな眼で周囲を警戒しており，容易に近づけない。驚くと，砂に潜ることもある。主にゴカイや甲殻類などを食べる。産卵期は5月から10月。産卵は夕方から夜間に行われ，浮遊性の卵を産む。1年で7cm，2年で13cm，4年で24cmに成長する。寿命はおよそ7年。

—漁業—

浅い砂底にいるので，海底に下ろした網を船で曳いて魚を捕る底曳網や，海底に網を這わせて魚を絡めて捕る刺網，釣りなどで漁獲されている。リクレーションとしての釣りの対象としても人気が高い。主に砂浜に立って竿を振り仕掛けを遠くへ飛ばす投げ釣りや，船から仕掛けを下ろす船釣りである。手に持つ竿に伝わる当たりに合わせてリールを巻き上げ，白く輝く魚体が見えると喜びもひとしおである。釣ってよし，食べてよし。養殖は行われていない。



キス釣り

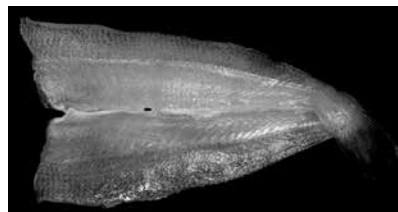
朝鮮半島や中国沿岸にも分布するが、輸入品はあまり見かけない。量販店などで、天ぷら用に加工されたキス類の開きを見かけるが、東南アジア産のシロギス以外のキス類が多い。体に沿って銀白色の帯があったり、腹鰭が黄色いものなど複数の種類が輸入されている。

築地市場では、鮮魚で入荷する。仲卸店舗には天ぷらのネタを専門に扱う店があって、店先でシロギスを捌いているのを見かける。一般の仲卸店にも発泡スチロールのトロ箱に並べられた鮮魚を目にすることが多い。弱い魚なので活魚で入荷することはほとんどない。通年入荷するが、5月から10月の入荷が多い。千葉県や三重県、兵庫県など内湾や浅い海のある地域から多く入荷する。10年ほど前までは、鮮魚で輸入されたキス類が頻繁に見られた。オーストラリアからの入荷が多く、ほかに東南アジアのものもあった。何種類も混ざっているのが面白かったが、その後、輸入鮮魚の入荷が少なくなり、外国産のキス類を見ることもなくなった。

一利用一

「きす」といえば天ぷら、天ぷらといえば「きす」というぐらい相性のいい間柄。天ぷらの元となった料理がヨーロッパからもたらされたのは江戸時代以前であるが、いつごろから天ぷらが普及し始め、そのネタにシロギスが登場したのか、きちんと調べたことがないのでよくわからない。江戸の一時期、貴重品だった食用の油が大量に出回るようになってからのことであろう。はじめは低俗な食べ物と言うことで、安く庶民が食べていたようなので、そのネタも身近にあったもの、つまり江戸前で捕れた魚貝類を揚げたことと思われる。手軽に手に入り、揚げ物にして美味しい白身の魚というと、あなご(マアナゴ)、めごち(ネズッコ類)、はぜ(マハゼ)そして「きす」である。ところが江戸前には2種類の「きす」がいた。アオギスとシロギスである。どちらの「きす」が天ぷらとして人気があったのか、これまたよくわからないが、ふるくから味は「シロギス、釣りはアオギス」といわれているので、シロギスが使われていた可能性は、高そうである。

というわけで、まずは天ぷらである。頭と内臓、中骨を除き、皮と尾鰭はつけたまま開きにして、これを揚げる。さくっとした衣の中は、ほくほくの白身で、ほんのりとした旨みが口の中に広がる、上品な味わいである。新鮮なネタであれば、天つゆではなく塩でいた



タイ産キス類の開き

だきたい。油との相性が良いので、フライや唐揚げ、南蛮漬けなどに向く。また塩焼き、新鮮で大きなものがあれば刺身も美味しい。

シロギスの産卵期は6月から8月なので、産卵前の初夏が旬といえるだろう。

－エピソード－

何年前か、オーストラリアの青年と知り合った。その彼が、「学校では“Fish（魚）”と呼ばれている」と言う。なぜ「フィッシュ」なのか聞いてみると、苗字がWhiting（ホワイティング）、つまり英語のキスだからだとのことであった。日本以外では馴染みのない魚だと勝手に思っていたのであるが、オーストラリアでは知名度があるのかと、再認識した。こんなことは論文や図鑑には書いていないので、実際にその地の人と接してみないとわからないことである。ちなみに、シロギスを科学的に世界へ紹介したのは、シーボルトが日本から持ち帰った標本を研究したテミンクとシュレーゲルで、今を去ること170年前の1843年のことである。

釣りについては漁業の項でも触れたが、キスの釣りとして独特なのが脚立釣りである。東京湾に多く見られたアオギスはシロギスより警戒心が強く、船の陰でさえ驚いて釣れなくなる。そのため遠浅の海に脚立を立て、その上に座って釣るのである。かつて東京湾の風物詩であった脚立釣りは、その後の埋め立てと水質汚染のためにアオギスが姿を消し、今では浦安市博物館などで展示物として見られるだけである。そんなアオギスを、一度だけ築地市場で見ることができた。九州から入荷した魚の中に1匹だけ混ざっていたものを、仲卸の方が気づいて取り置いてくれたのである。アオギスも、以前は築地市場に入荷したのであろうか。

文 献

- 1) 金田禎之：江戸前の魚，成山堂書店（2011）
- 2) 河野 博（監）：東京湾の魚類，平凡社（2011）
- 3) 京都府立海洋センター（編）：京のお魚大集合，京都新聞出版センター（2005）
- 4) 中坊徹次（編・著）：日本産魚類検索 全種の同定 第3版，東海大学出版会（2013）
- 5) 山田梅芳ほか：東シナ海・黄海の魚類誌，東海大学出版会（2007）

伝える心・伝えられたもの

— 諸味蔵の神さま —

宮尾 茂雄

(東京家政大学)

ここ40年ほどの間に醤油の製造風景は随分と変わった。古い醤油蔵が取り壊され、杉桶も使われなくなった。それに替わって耐水性構造の床や壁、埃の溜まらない天井や照明器具、洗浄殺菌しやすいステンレス製密閉式大型タンクとそれを繋ぐパイプラインなどが設置された。これらは醤油の製造現場を一変させた。かつて諸味蔵(仕込み蔵)に棲んでいた醤油醸造の神さま、「ご先祖さま」(微生物)は一体どこに行かれたのだろうか？

そんな思いを抱いていた時に、小豆島町馬木で昔からの諸味蔵を大切に使いながら美味しい醤油作りを続けている正金醤油株式会社、藤井正信さんの話を知人から聞いた。

藤井さんは醤油作りで大切なのは諸味作りであり、これで醤油の味の7割が決まる。原料の大豆、小麦、食塩とともに諸味蔵と木桶が大事だという。小豆島で最初に農林大臣賞を受賞した山吉醤油(1810年創業)は後継者がなく廃業していた。藤井さんはその工場を譲り受けて、再び醤油蔵として立ち上げる試みを続けておられる。寒仕込みが始まった12月下旬、小豆島に藤井さんをお訪ねした(写真1)。

筵麴(むしろこうじ)の話

昔から醤油作りは「一麴、二糶、三火入れ」といわれている¹⁾。最初に「宝醤油協同組合」の製麴室で麴の話を知った。

仕込み用の麴は麴蓋(板盤)で作ることが多いが²⁾、小豆島では大豆、小麦、種麴を混ぜたものを筵(むしろ)の上に約8cm位の厚さに広げて作っていた(筵麴)(写真2)。麴の温度が40℃以上になると麴菌の増殖が止まり、納豆菌などが繁殖してくるので、熱をもちすぎないように「手入れ」を行った。手入れは、仕込み後20時間ほど経過したところで生育途中の麴を全て床の敷物の上に一旦落とし、手で良くもみほぐして再び筵の上に広げる作業である。麴室(こうじむろ)の広さはおよそ3間×3間(5.4m×5.4m)で土蔵作り、天窓や壁には窓もあるが、練炭火鉢で暖めていたので真冬でも蒸暑く、全



写真1 正金醤油諸味蔵にて藤井正信さん(左)



写真2 筵麴の棚のある麴室(マルキン醤油記念館)

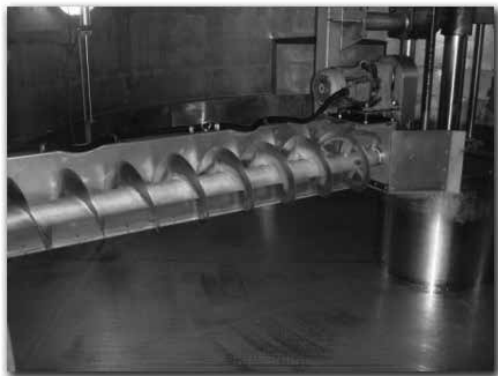


写真3 自動製麴装置内部スクリー装置



写真4 出来上がった醤油麴(3日麴)

身から汗が噴き出る作業だった。4日かけてできた醤油麴を室から出す時には、髪の毛やまゆ毛が麴の胞子でまっ黄色になったという(4日麴)²⁾。

1948(昭和23)年に馬木地区の15の醤油生産者が「小豆島食品工業協同組合」を結成し、昭和26年には「宝醤油協同組合」に改組された。昭和32年頃、共同で床式通気製麴装置(3間×3間)を導入し、作業効率の向上を図った。一方、装置の導入により蒔麴は終了した。その後、平成8年には、直円式の自動製麴装置が導入され、共同で麴作りを行うようになった。自動製麴装置は、円筒形のチャンバー内の床から空気が吹き上げ、麴の温度がある程度まで上がると自動的にスクリー装置による手入れ(攪拌)が行われるもので(写真3)、仕込み3日目に醤油麴が出来上がる(3日麴)(写真4)。麴は、それぞれの生産者が持ち帰り、食塩水を加えて直径2m余り、深さ1.65m程の32石(約5700ℓ)の杉桶(大桶おこが)に仕込む(写真5)。藤井さんは昔の蒔麴の方が良い麴ができたという思いを今でもお持ちのようだった。



写真5 諸味蔵(西蔵)

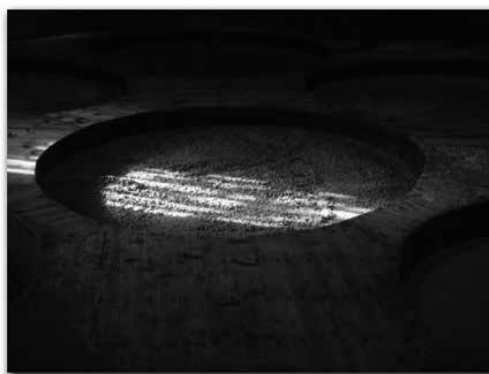


写真6 2012年秋に仕込んだ諸味, 砕けた豆や麦が識別でき、全体的に黄灰色

杉桶と糶入れ

諸味の糶入れ(攪拌)は長さ2m余りの竹の棒で、先端に木製の板を付けた糶(かい、糶棒)で行った。仕込み時は麴と食塩水がなかなか均一に混ざらないので力がある(写真6)。仕込みから5カ月前後、空気を入れないと酵母が活動しないので様子を見ながら時々糶入れをする。外気温が25℃以上になると発酵は急激に活発になる。5月下旬から6~7月の最盛期、諸味には全体が桶の



写真7 2011年秋に仕込んだ諸味，全体的に明るい赤茶色



写真8 杉桶で使う梯子



写真9 諸味蔵入り口の階段，たたき部分は以前压榨室

中で15～20cm持ち上がるくらい力があり，櫛入れにもこつがある。ガスが抜けるとその勢いで諸味がそこらじゅうに飛び散る。7月半ばを過ぎると少しずつ落ち着いてくるが，気温の高い間は白カビが生えることもあり，数日おきに櫛入れを行う。仕込みからおよそ1年，晩秋になると色は明るい赤茶色に変わり粘稠度も高くなる。それでもまだ発酵が緩やかに続いており，時々ポツツ，ポツツとガスが湧き出てくる（写真7）。この頃はまだ塩辛さが抜けない。さらに半年余りかけて熟成させると塩かどもとれ，まろやかな味に仕上がってくる。諸味の加減をみながら根気よく行われる櫛入れには「もろみまぜの唄」があったそうだ。

藤井さんのお父さん（藤井正七さん）の頃に太いパイプを桶の底まで通して空気を送り込み曝気する攪拌用ポンプを導入したそうだ。

熟成した諸味は桶から長い柄の柄杓で取り出していた。量が少なくなると一人が桶の底まで梯子で降りて（写真8）諸味を寄せて，もう一人が上から汲みだした。担い桶1つに1斗余り入るので，天秤棒の両端に下げると重さは50kg近くになった。これを担いで压榨場と諸味蔵の間を何度も往復した。階段の上り下りもあり（写真9），桶と桶の間が狭いので，何度も落ちそうになったそうだ。今は桶からの出し入れにはポンプを使っている。

諸味を搾る（ふながけ作業）

昔はもも桶を使って木綿の袋に諸味を入れ压榨していた（写真10）。強い圧力をかけるので，布も綻びやすく修繕専門の人もいた。テコの原理を利用し，長い棒の片側に重石をつけて舟（木

の槽）に入れて搾る「棒締機（ぼうじめき）」を使っていた時代もあった（写真11）。その後サクラの木のできた槽に諸味の入った袋を並べて，上から鉄の蓋を下ろす压榨機ができた（写真12）。搾り機から流れ出した生醤油（生揚げ醤油）をカメに集め，加熱（火入れ）を行った。

水圧式压榨機はおじいさん（藤井松吉さん）が使い始めた。当時としては一番大型のものだった。平成8年には油圧式压榨機（6kl）を使用し（写真13），濾し布も丈夫な合成繊維になり，短時間



写真10 もも桶 (マルキン醤油記念館)



写真11 棒締機 (マルキン醤油記念館)

で効率的に作業が行えるようになった。それでも醤油を搾るには数日かかる。醤油は空気に触れると色が黒くなるので、あまり時間をかけずに搾ることも大切であり、新式の搾りは「良いと思う」と藤井さんは話された。

醤油を運ぶ

大阪万博 (1970 年開催日本万国博覧会) があつた頃までは、夜、醤油樽 (最初は四斗樽、およそ 72 リットルの醤油が入る。醤油は水に比べて 2 割増しの重さがあるので樽の重さを含めて 1 個当たりおよそ 90kg になった。) をトラックに積んで福田港から姫路港間はフェリーに乗り (現在福田港～姫路港までは 1 時間 40 分)、さらにその先の京阪神のお得意先まで運搬して、トンボ帰りで戻ってきたそうだ。万博の時には奥様と二人のお子様もトラックと一緒に乗って大阪まで行き、その足で万博見物をして帰ってきたこともあつた。

「昔は、ようあんなことしよつたな」どちらかと云うと小柄でやせ形の藤井さんのどこからそんなパワーが出るのだろうか。小豆島の醤油は、このように厳しい労働と様々に工夫された道具類から作りだされていた。当日の気温は 8℃、窓越しに冬の日が差し込む静かな諸味蔵の中で藤井さんのお話は続く。

機器の導入、運送業の発展等によって重労働から解放されるようになった。「小さい醤油屋だけれど機械の導入は早かつた」という。「機械化できる部分には多少経費が必要でも機械を導入していく」という考え方はおじいさん、お父さんから受け繋いでいるように感じた。それはまた小豆島の醤油屋さんに共通する考え方もかもしれない。江戸時代から続く「最



写真12 压榨機 (旧山吉醤油)、下の槽を舟、上に鉄の蓋が見える



写真13 現在使用中の压榨機 (正金醤油)

上醤油」の野田や銚子などの先発産地に対抗して、小豆島醤油を発展させるために様々な工夫や努力が必要だった。その一つとして小規模な醤油屋さんを会社組織にまとめることで資本力の増強を図った³⁾。また新技術を導入するため1908（明治38）年にはマルキン醤油の創業者であった木下忠次郎氏が中心となって小豆島醤油製造同業組合立醸造試験場を創立し、技師長として東京帝国大学出の清水十二郎工学博士を迎えた。試験場は明治40年に小豆郡立になり、明治43年に香川県に移管され、現在は香川県産業技術センター発酵食品研究所として、地元の醤油屋さんにとって力強い味方となっている。小豆島で生産される醤油の検査や指導、乳酸菌などの配布事業などを行っている。



写真14 入口の瓦屋根、黒いカサカサしたものが堆積

醤油工場の屋根瓦や壁は黒い。醤油工場の近くでは黒カビが発生し、屋根や壁を黒くすることが知られている。これは、黒カビが醤油醸造中に生成するアルコールを栄養源としているからだ。「醤油屋は屋根瓦が黒くないといけない、醤油屋は上から見ると一発で分かる、仕込み量が少なかったり、醤油作りをやめると2～3年で屋根瓦の色が白っぽくなる。醤油屋の屋根が白くなったらいかんよ」とおじいさんは話していたそうだ。階段脇の雨樋や瓦にはカサカサした黒いものがたくさん積もっていた（写真14）。これがその正体だろうか。

藤井さんのこだわり 諸味蔵、木桶そして時間

藤井さんが徹底してこだわっているのは、諸味蔵とその中で何十年も醤油を作り続けた杉の木桶による伝統的な醸造方法である。

小豆島で醤油作りが始まったのは18世紀末期の寛永年間（1789～1801）とされている³⁾。（小豆島の醤油作りは文禄年間（1592～95年頃）に紀州から伝えられた。との説もある）。馬木地区はもともと赤穂からの製塩業者によって塩田として開発された土地だ。しかし明治になると早々に塩田は廃止され、醤油工場の拡張が行われた。その結果1870（明治3）年には小豆島の醤油屋の数は約75戸（東部地域）、仕込み石高は10,700石であったものが、1905（明治38）年には約117戸、仕込み石高は66,600石と倍増した³⁾。

正金醤油は金両（きんりょう）醤油創業者の三男であった藤井松吉さん（祖父）が1920（大正9）年にのれん分けをしてできた小豆島では比較的新しい醤油屋さんだ。正金醤油西蔵はこの時譲られたもので築130年、この地区に現存する最も古い諸味蔵だ⁴⁾。5間×10間の長方形で杉桶は32本、当時からの桶も14～15本残っている。天井が低く、作業中に梁に頭をぶつけそうになることもあるそうだ（写真15）。太い梁や柱などの木材は小豆島産ではなく、海を渡って来たものかもしれないという。その隣にある東蔵は昭和5年、藤井さんが生れた年に建てられ、今は主に再仕込醤油を作っている（写真16）。压榨場の隣には新しい諸味蔵があり（写真17）、旧山吉醤油にある諸味蔵を合わせると、現在桶の数は約130本になる。小豆島全体では現役の杉桶が約1000本あるが、同



写真 15 太い梁



写真 16 手前東蔵，奥西蔵，正面「宮山」を越えると内海湾



写真 17 新しい諸味蔵（正金醤油），屋根，外壁がうっすら黒く色付いている



写真 18 煙突は醤油工場のシンボルだった（旧山吉醤油）

じ地域にこれだけたくさんの桶が集まっているところは他にはないという。

西蔵の前の細い道を登っていくと突きあたりに煉瓦造りの煙突が見える旧山吉醤油の工場跡がある（写真 18）。諸味蔵や圧搾機、小麦を炒る大釜「焙烙（ほうろく）」用の竈（かまど）や煙突が残っている。多い時には 140～150 本の桶があり、20 名以上の人が働いていた。3 間四方の麹室が 4 棟あったそうだが今は残っていない。廃棄後放置されていたが、藤井さんは平成 14 年頃から手を入れて、今では諸味蔵として木桶が並ぶようになった。諸味蔵以外の場所も修繕しながら生産を続けている。杉桶はかつてここで使われていたもの、廃業などにより不要になったものを譲り受けて、この由緒ある古い蔵の中で第二の人生を歩んでいるものもある。中には生産量が減少した湯浅³⁾から海を渡ってきた桶もあるかもしれないという。

諸味蔵と杉桶，どちらも醤油作りに欠かせないものだ。だから良い諸味の出来る桶を大切に使いつづける。また一度使われなくなったものも修繕して利用していきたいと藤井さんは考えておられる。リノベーション（renovation 修理・修復すること。また改善すること）と称して、古くからの建屋との統一感を考えず修復，補強した建物を目にすることがある。藤井さんの再生計画は，もっとシンプルである。床や壁の腐食したところは補強し，張り替える。屋根は雨水が漏らないように修繕しても，むきだしの梁はそのまま（写真 19）。腰板は新しくしても土壁はそのまま残す（写真



写真 19 屋根の修理（左側は雨漏りがするので天井板を張替）



写真 20 修繕中の諸味蔵（腰板を張る前）



写真 21 修繕後の諸味蔵（腰板、床）



写真 22 正金醤油もろみ蔵として再生(旧山吉醤油)

20, 21)。床のコンクリートを打ち直して古い杉桶を並べる。修繕には普通の大工さんではなく、造船や修理の技術をもつ船大工の経験者の力が大きいそうだ。数年間使われず漏るようになった木桶も大かたは修復できるという。上手に使用すれば 130 年以上は使えるそうだ。すっかり壊して建て替えるよりも、手間も時間もたっぷり必要だと思う。

旧山吉醤油蔵は諸味蔵の神さまにとっても住み心地のよいしつらえになってきた。休眠状態から目を覚まし、また新たな活動が始まっているような気がした（写真 22）。

再仕込醤油

再仕込醤油はもともと山口（柳井）や九州の一部で行われていた製法であり、小豆島では行われていなかった。大豆、小麦、麴から作られた醤油麴に、食塩水の代りに生醤油（生揚げ醤油）を加えて仕込みを行う⁵⁾。藤井さんは昭和 50 年代頃から始めた。最初の生醤油が出来上がるのに 1 年余り、新たな原料（醤油麴）に生醤油を加えてさらに 1 年余、仕上げには 3 年位かかる。「二段仕込匠」という商品名で販売しているが、通常の醤油より割高になる。

1987（昭和 62）年、児玉清さん司会のテレビ番組のなかで、諸味蔵や再仕込醤油を取り上げてもらったことがあった。それが評判を呼び、注文の電話が 1 週間鳴りやまなかったそうだ。当時は製品もポツポツ出回り始めたところで、これからどうしようかと考えていた矢先だった。高くても

良いものは売れるということが、一つの大きな転機になった。成分的には3倍程の濃さがあるが、塩分は14%と通常の16～17%に比べて低く、味はまろやかだ。平成16年には、再仕込醤油が農林水産大臣賞を受賞されたそうだ。現在は天然醸造の醤油をベースにして、だしやぼん酢など生産品目の拡充を図っている。

「昔風の天然醸造醤油と今のものとの違いといっても、本当にちょっとした違いで、よく吟味すると微妙な差だけれどわかる。それを良いと言ってくれる人がいるので作っている。それを商業ベースにのせることができたので、商売としても成り立っていける。」と藤井さんは話された。

諸味蔵の神さま

古いものの価値とは何だろう。博物館のガラスケースの中の展示品と違って、建物の場合はそれを生かすこと、活用することだと思う。藤井さんがかつて高品質の醤油を作っていた山吉醤油を譲り受けて再生させようと努力されているのは、古くからの良いものを受け継ぎ、さらに味や香りを深めていきたいとの思いだ。古くからあるものの力を借りる。かつて良質の醤油を作っていた蔵にはそれだけの力があると信じておられるからだとは思った。

いま醤油の多くは大切に保存している各社独自の種麹 (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*), 乳酸菌 (*Tetragenococcus halophilus*), 酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii*) などの微生物を添加して作られている⁵⁾。そのおかげで醸造期間もおよそ6カ月と短くなり、均一で良質な醤油を大量に生産し、提供できるようになった。何百、何千という微生物の中から、選び抜かれたこれらの微生物は、醤油作りの超エリート集団であり、醤油生産者と多くの研究者や技術者による研究開発の素晴らしい成果だと思う。

しかし、藤井さんが大切に考えておられるのはこのように分離されたものというよりも、古くから蔵や木桶に棲みついている様々な多様な微生物であり、諸味蔵の在り様そのものなのであろう。それに加えて冬の仕込みから、春、夏の発酵、そして熟成とゆっくりと歩みを進める「時(とき)」が味わい深い醤油を作りだしているのだろう。

大切に守られている諸味蔵をみているうちに、ブルーチーズで有名なロックフォールチーズのことを思い浮かべた(写真23)。ロックフォールチーズは、羊乳に凝乳酵素を加えてカード(凝乳)を作り、アオカビ (*Penicillium roqueforti*) により発酵・熟成させるフランス、ロックフォール地方のチーズである。アオカビを接種したカードを型からはずし、コンバルー山の洞窟の熟成庫に運び込み3～9ヶ月熟成する。アオカビは、近年は人工培養したものが用いられることもあるが、古くはコンバルー山の洞窟で採取されたものを利用してきた。

諸味蔵(西蔵、東蔵、旧山吉醤油)を見せていただいた。蔵の前に立つとうっすらと醤油の匂い、蒸した豆と麦こがしの混ざったような香りが漂ってくる。やわらかい香気、窓から差し込む日の光、長い年月、諸味を醸し続けた静か

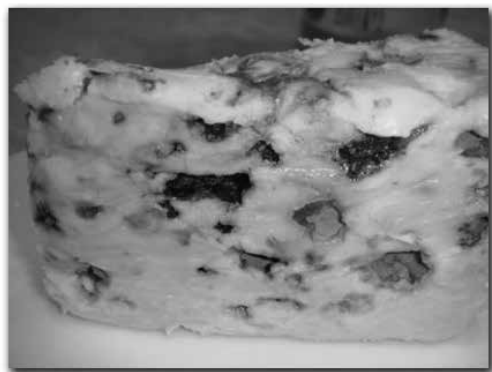


写真23 ロックフォールチーズ (ROQUEFORT PAPILLON)

な蔵のたたずまい。藤井さんの穏やかな語り口，エアポンプと蛇腹のホースを除けばこの光景は何十年あるいは百年以上前と変わらないのではないか。そんな時の流れの凝縮を感じた。やはりこの蔵にはかぐわしい香気を醸し出す諸味蔵の神さまが棲みついているような気がする。木桶だけでなく，蔵の梁や壁にも神さまが棲みついている。

苗羽（のうま）地区にある「マルキン醤油記念館」に連れて行ったいただき，展示品を見ながら小豆島の醤油の歴史を教えていただいた。最後に車で30分程離れたところにある映画「二十四の瞳」のロケ地となった苗羽小学校田浦分教場跡（昭和46年廃校，現在は岬の分教場として保存）を訪ねた。原作者の壺井栄（1899～1967年）は坂手村の出身で父親は腕の良い樽職人であった。

瀬戸内国際芸術祭2013「アートと島を巡る瀬戸内の四季」が2013年3月20日から始まった。この地区も「醬の郷」として参加し，山吉醤油の母屋も展示会場になるそうだ。諸味の発酵が最盛期を迎える頃，もう一度訪れたいと思った。

諸味蔵を見せていただき，醤油作りのお話を聞かせて下さった藤井正信様に心から感謝申し上げます。

参考資料

- 1) 館 博編、高部晴市絵：しょうゆの絵本，農山漁村文化協会（2006）
 - 2) 田中秀雄：醤油 藤井建夫監修「伝統食品の知恵」より、柴田書店（1993）
 - 3) 天野雅敏：小豆島の醤油醸造業 林玲子，天野雅敏編「日本の味 醤油の歴史」より、吉川弘文館（2005）
 - 4) 醬の郷散策 MAP
 - 5) 久保田芳郎，宗像伸子，館 博監修：しょうゆの不思議 改訂版，日本醤油協会発行（2012）
- ・正金醤油株式会社：香川県小豆郡小豆島町馬木甲 230 電話 0879-82-0625

月刊 ニューフードインダストリー

NEW FOOD INDUSTRY

定期購読の
ご案内

月刊「ニューフードインダストリー」は創刊54年の食品業界誌です。

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

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

年間購読料：**23,760**円（送料・税込）

お申し込み・お問い合わせは下記FAX かお電話で

電話：**03-3254-9191** 担当：村松

FAX：03-3256-9559

ニューフードインダストリー年間購読申込用紙

住所 〒

氏名

会社名・所属

電話

FAX

E-mail

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

ニューフードインダストリー 第55巻 第8号

印刷 平成 25 年 7 月 25 日

発行 平成 25 年 8 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