

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2015 Vol.57 No.1

1

巻頭言

- 「機能性成分の時間栄養学」と「機能性おやつ」開発

論 説

- 全身に影響する歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* に対するパイオイオナース®の抗菌作用について
- ホルモンと食品成分による時計遺伝子 SHARPs の発現調節機構
- 松の実殻アルカリ抽出液 (SPN) の生物活性と今後の展望
Biological activity and future prospect of alkaline extract of pine seed shell
- 新規抗ストレス機能性食品素材「酵素処理アスパラガス熱水抽出物“ETAS”」のご紹介
- 変形性膝関節症に対する機能性食品のエビデンス
ーグルコサミン・コンドロイチン・CBP (乳清活性たんぱく) 含有サプリメントの有用性についてー
- タマネギ外皮の有効利用の可能性について
- 赤血球キサントフィルの生理的意義：アルツハイマー病の早期発見と食品成分による予防を目指して
- 病気を予防するコーヒーの飲み方
- はだか麦の隠れ機能の利活用について

隔月掲載コラム

- 管理栄養士 てるこ先生の家庭の食文化 第 1 回 おせち料理

連 載

- “地域密着でキラリと光る企業”
上勝の棚田米と湧水と負けん気でこっしゃえた
純米吟醸原酒と米焼酎 『株式会社高鉾建設 酒販事業部』

新春随想

- 「漬物塩嘉言」小田原屋主人



巻頭言

- 「機能性成分の時間栄養学」と「機能性おやつ」開発
..... 矢澤 一良 1

論 説

- 全身に影響する歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する
バイオイオナース® の抗菌作用について
... 窪田 倭, 高塚 正, 和田 雅年, 松澤 皓三郎, 森 勲, 松下 行利, 山地 信幸 3

- ホルモンと食品成分による時計遺伝子 SHARPs の発現調節機構
..... 高木 勝広, 浅野 公介, 羽石 歩美, 山田 一哉 7

- 松の実殻アルカリ抽出液 (SPN) の生物活性と今後の展望
Biological activity and future prospect of alkaline extract of pine seed shell
..... 坂上 宏, 佐藤 和恵, 加藤 崇雄, 下山 哲夫, 金本 大成,
寺久保 繁美, 中島 秀喜, 須永 克佳, 津田 整, 牧 純, 吉原 正晶 19

- 新規抗ストレス機能性食品素材
「酵素処理アスパラガス熱水抽出物 “ETAS”」のご紹介
..... 前田 哲宏, 高成 準, 後藤 一法, 佐藤 敦哉, 三浦 健人 27

- 変形性膝関節症に対する機能性食品のエビデンス
ーグルコサミン・コンドロイチン・CBP (乳清活性たんぱく)
含有サプリメントの有用性についてー
..... 蒲原 聖可, 影山 将克, 内藤 健太郎 35

- タマネギ外皮の有効利用の可能性について
..... 堀田 幸子, 小谷 明司, 有水 育穂 42

- 赤血球キサントフィルの生理的意義:
アルツハイマー病の早期発見と食品成分による予防を目指して
..... 喜古 健敬, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫 47

Contents

2015 年 1 月号

隔月掲載コラム

- ☐ 管理栄養士 てるこ先生の家庭の食文化 第1回 おせち料理
..... 中村 照子 56

論 説

- ☐ 病気を予防するコーヒーの飲み方
..... 岡 希太郎 57
- ☐ はだか麦の隠れ機能の利活用について
..... 渡部 保夫, 清水 芽依 65

連 載

- ☐ “地域密着でキラリと光る企業”
上勝の棚田米と湧水と負けん気でこっしやえた
純米吟醸原酒と米焼酎『株式会社高鉾建設 酒販事業部』
..... 田形 暁作 71

新春随想

- ☐ 「漬物塩嘉言」小田原屋主人
..... 宮尾 茂雄 77

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料
コクベス

new発酵調味料
D&M
ディアントエム

ゼラチン&小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベス
ラクティックイーストエキス
乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳酵母エキスです。

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

「機能性成分の時間栄養学」と 「機能性おやつ」開発

早稲田大学 ナノ理工学研究機構

規範科学総合研究所 ヘルスフード科学部門 研究院教授 矢澤 一良

平成 25 年 6 月の閣議決定による規制改革が行われており、食品・機能性食品の分野でも、食品の機能性表示に関する環境が非常に大きく変わりつつある時代になりました。即ち平成 27 年度には「機能性表示食品」という新しいジャンルも出来上がる予定です。我々が今までずっと提唱してきた「食による予防医学＝健康寿命の延伸」という図式が、国民の健康・福祉と国の健全性（医療費抑制など）を助ける事になるということが、食品の機能性表示の拡大という方針にピッタリ合ったのです。こういうチャンスはそう来るものではない、二度とないかもしれないような、食品の機能性を多くの方に知っていただく時代が来る。このような世の中の流れに勇気づけられ、ヘルスフード科学の研究と啓発活動を継続しております。

幸な事に、平成 26 年 4 月に早稲田大学ナノ理工学研究部門規範科学総合研究所に新しく「ヘルスフード科学部門」を作って戴き、研究活動を継続する大変有難い機会を与えて戴きました。

早稲田大学先進理工学部では柴田重信教授が先駆的に「時間栄養学」を推進されており、「機能性食品成分」における「時間栄養学」を柴田先生と共同で研究活動を行う事となりました。

やりたいと考えていることは、若い人たちにこの領域、分野（「機能性成分の時間栄養学」）に興味を持っていただいて、若手研究者を育成できる環境を整えていきたいということです。栄養士・管理栄養士という資格（本人たちが国家的な知的財産と位置づけられます）を持ちながら十分に活用していない人たちがいます。一方、医学薬学系ではしっかりした栄養学はあまり勉強して来っていない状況があります。これからは、医・薬・食の連携により人の健康・福祉に直接関わっていく事が重要です。これら三者は同格でなくてはなりません。それによって人の健康・福祉という社会貢献に繋がっていくのではないかと思います。社会貢献、一般消費者の健康・福祉のためという目的が最大唯一の私の考えで、その一つの分野としてヘルスフード科学があります。ヘルスフード科学の進展には医・薬との連携が必要であり、その中で食や栄養に関わる人たちにより広く理解していただきたいと思います。そのためにもこれから行うヘルスフード科学分野での「時間栄養学」という新しい研究分野を進めていくことが大事ではないかと思います。

近年、時計遺伝子の研究により、一つひとつの細胞に時計があることがわかりました。生体リズムの中樞はヒト、ほ乳類では視交叉上核にありますが、生体リズムは全身の細胞で出現しています。このことは時間異常による栄養学や疾病発症を考える上で極めて重要です。全身の臓器の細胞は、時計遺伝子が形成する時間システムの上で機能を発現していますので、時計機構の異常は容易に細胞や臓器の機能不全に結びつき、高血圧や糖尿病などの生活習慣病を引き起こす可能性が示唆されております。近年のシフトワーカーでの疫学研究では、生体リズムの異常がメタボリックシンドロームなどを増加させると指摘しています。

体内時計のリズム現象は24時間周期ではなく24.5時間といわれていて、少しずつずれていくのですが、それをリセットするのが朝の光なのです。それと同時に朝食を摂ること、規則正しい食事を摂ることは脳や末梢の時計のずれをリセットし、血液中のさまざまな代謝の日内変動を保ちますので、身体の健康を維持する上で極めて重要と考えられます。

私たちは、それを別にリセットできる方法としてある種の機能性成分にその働きがあるのではないだろうかと想定しているのです。すでにその可能性を示すデータが出つつあります。そうすると、栄養、カロリー、生体内のバランスを取るための機能性成分ということだけではなくて、時計遺伝子作動性の素材を新規機能として調べ上げようというのが、今我々が手掛けている内容です。

多くの栄養学、食品学研究者の参集を期待しております。

全身に影響する歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する バイオイオナース®の抗菌作用について

窪田 倭 (KUBOTA Sunao)¹ 高塚 正 (TAKATSUKA Tadashi)² 和田 雅年 (WADA Masatoshi)¹
松澤 皓三郎 (MATSUZAWA Kozaburo)¹ 森 勲 (MORI Isao)³
松下 行利 (MATSUSHITA Yukitoshi)⁴ 山地 信幸 (YAMAJI Nobuyuki)¹

¹ セパレーターシステム工業株式会社 開発部

² 一般財団法人 ケケン試験認証センター 関西事業所

³ 美吉野製薬株式会社

⁴ 松下工業株式会社

Key Words : *P. gingivalis* 歯周病 バイオイオナース® 抗菌作用 口腔ケア 予防 実験

はじめに

我が国の平成 23 年歯科疾患実態調査によると調査対象者 (5 歳 -85 歳以上) の約 34% に何らかの歯周病の症状があることが認められている¹⁾。50 歳以上の年代層ではほとんどが歯肉炎から重症の歯周炎にいたるまでの病態の歯周病に罹患し、さらに若年層に至るまで拡大している¹⁾。歯周病が口腔内局所の疾患のみならず心臓・血管系疾患²⁻⁶⁾や糖尿病⁷⁻¹⁰⁾などの生活習慣病、さらに早期低体重出産¹¹⁻¹³⁾などに関与していることが明らかにされている。

歯周病は歯芽と歯肉の境目である歯肉溝に付着する歯垢 (プラーク) 中の細菌 *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* などのグラム陰性嫌気性菌である歯周病菌やその代謝産物と生体との炎症反応および免疫反応により引き起こされる。

著者らは生体に無害で環境に易しい除菌消臭剤バイオイオナース®を開発し広範囲の細菌に対する抗菌作用を、さらにノロウイルスや高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N3) に対しても不活化作用があることを報告してきた¹⁴⁻¹⁸⁾。今回、著者らはバイオイオナース®

が心臓・血管系疾患や糖尿病などに関与する歯周病菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対して抗菌作用を有するかどうか検討し若干の知見を得たので報告する。

1. 実験材料及び方法

1-1. 実験材料

試験菌として代表的な歯周病菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* JCM 8525 を用いた。

検体として既に報告した方法により作成した粉末化バイオイオナース®¹⁶⁾を精製水に溶解し濃度 2% (w/v) のものを用いた。

1-2. 実験方法

1) 菌数測定用培地および培養条件

PEA 加ブルセラ HK 寒天培地 (極東製薬工業株式会社) を用い 37 ± 1°C にて 5-7 日間嫌気培養した。

2) 菌液の調整

試験菌を PEA 加ブルセラ HK 寒天培地で 37 ± 1°C, 5-7 日間嫌気培養したのち、生理食塩水に浮遊させ菌数が 10⁷-10⁸/ml となるように調整し、菌液とした。

3) 試験操作

検体 10 ml に菌液 0.1 ml を接種し試験液とした。室温で保存し 30 秒および 10 分後に試験液を SCDLP 培地（日本製薬株式会社）で直ちに 100 倍に希釈した。この希釈液の生菌数を菌数測定用培地を用いた平板塗抹培養法により測定した。

なお対象として精製水を用いて同様に試験し、開始時についても生菌数測定を行った。

試験液を SCDLP 培地で 100 倍に希釈することにより、検体の影響を受けずに生菌数が測定できることを予備実験により確認した。

2. 結果

表 1 に示す如く開始時 8.4×10^5 個の *P. gingivalis* の生菌数はバイオイオナース® 30 秒接種後には検出されなかった。10 分接種後においても *P. gingivalis* の生菌数は検出されなかった。

一方、精製水では開始時 8.4×10^5 個の *P. gingivalis* の生菌数は 30 秒接種後には 5.4×10^5 個とほとんど変化がなかった。10 分接種後においても同様に変化は見られなかった。（表 1）培養後の *P. gingivalis* の生菌数測定平板を写真 1-5 に示した。（図 1-5）

3. 考察

歯周病は歯肉の炎症と歯槽骨の破壊・吸収が起る疾患の総称で、炎症が歯肉のみに限局している歯肉炎と歯槽骨までの吸収が見られる歯周炎に分けられる。歯周病は重症に至るまで自覚症状がほとんどなく進行し silent disease とも称されている。歯肉炎が心筋梗塞や狭心症、動脈硬化などの心臓・血管系疾患や糖尿病など全身疾患と関連することは広く医学、歯学領域において知られようになってきた²⁻¹⁰⁾。

歯周病がどのようなメカニズムで全身疾患のリスクを上昇させ、また進行を促進させるかについては、1) 歯周病菌が血管内に侵入し標的臓器に影響し疾患の発症や進行を促進するとする仮説、2) 歯周局所の炎症反応によって全

表 1 試験液 1ml 当たりの生菌数測定結果

試験菌	対象	生菌数 (／ml)		
		開始時 *	30 秒後	10 分後
<i>P. gingivalis</i>	検体	8.4×10^5	<1000	<1000
	対照	8.4×10^5	5.4×10^5	2.5×10^5

* 菌液接種直後の対照の生菌数を測定し、開始時とした。
<1000：検出せず
対照：精製水
保存温度：室温

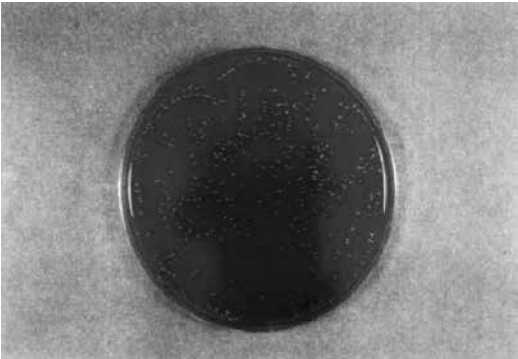


写真 1 *P. gingivalis* 開始時 対照 (試験液 0.001ml)

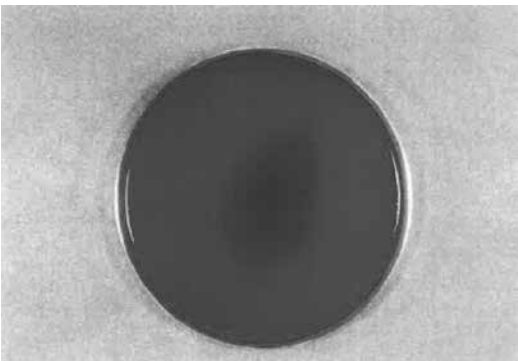


写真 2 *P. gingivalis* 30 秒後 検体 (試験液 0.001ml)

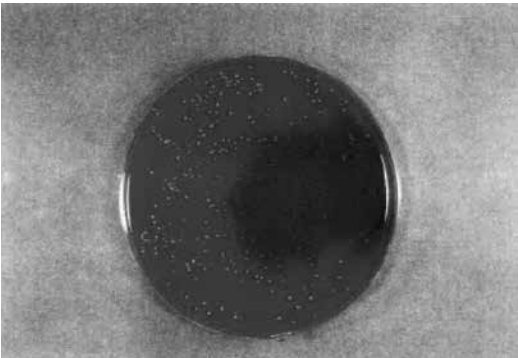


写真 3 *P. gingivalis* 30 秒後 対照 (試験液 0.001ml)

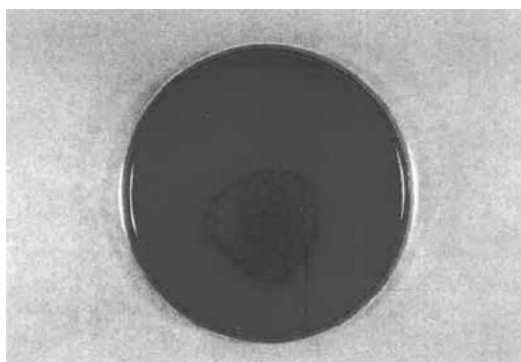


写真4 *P. gingivalis* 10分後 検体(試験液 0.001ml)

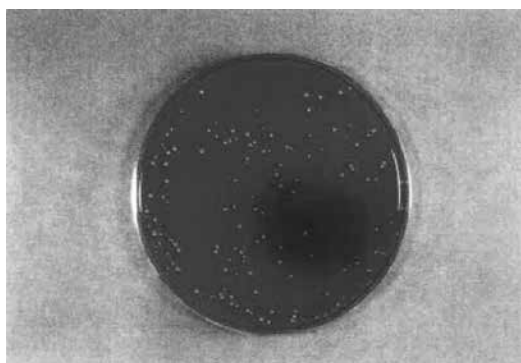


写真5 *P. gingivalis* 10分後 対照(試験液 0.001ml)

身的な炎症反応が亢進し疾患のリスクを上昇させ且つ促進するという仮説がある。前者は心冠動脈疾患の原因となっている内壁プラーク内から *P. gingivalis* と *Campylobacter rectus* が高頻度に検出された報告やアテローム組織中や大動脈瘤組織中から複数の歯周病菌が検出されている報告などから支持される^{2,3)}。後者の仮説はインスリン抵抗性を上昇させる CRP, IL-6 や TNF- α などのサイトカインが歯肉炎組織で過剰に産生され血流に乗って全身に運ばれ、インスリン標的細胞に働いてインスリン抵抗性を生じⅡ型糖尿病の血糖コントロールが悪化する報告やその他の報告から支持される⁸⁻¹⁰⁾。しかし詳細なメカニズムはいまだ明確に解明されていないのが現状である。

わが国の糖尿病患者は約 890 万人、糖尿病予備軍の患者と合わせると約 2210 万人と報告

されている¹⁹⁾。循環器疾患はわが国の三大死因（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）のうちの心疾患、脳血管疾患に関与する致命的疾患である。これらの疾患のリスクを上昇させ、かつ進行を促進させる歯周病の予防と早期治療は医療費抑制の面から、また長寿で健康を維持する QOL 向上の面でも重要である。特に予防としての歯周病菌やプラーク除去を目的とした口腔ケアは重要である。

口腔ケアには歯科医師や歯科衛生士が行なうプロケアと歯科医師や歯科衛生士の指導を受けた上で患者自身が家庭内で行なうホームケアがある。我々が日常施行するホームケアとしての歯磨剤と歯ブラシによるブラッシングは実際には思ったほど磨けていないこと、歯の表面に楔状の磨り減りが生じることなどの欠点がある。そこで歯周病菌に対して抗菌作用を有する口腔内洗浄液があればこれらの欠点を補える。現在歯周病菌に有効な歯磨剤が市販されているが、その有効性についての詳細な報告は見られない。

結果の項で述べたごとく生体に無害なバイオイオナース®は歯周病菌 *P. gingivalis* に抗菌作用を有していることより歯周病治療中の洗浄液として期待される。また齲蝕菌 (*Streptococcus mutans*) に対しても殺菌効果があること（未発表データ）より齲蝕治療中の洗浄液としても期待される。しかし歯周病予防の口腔内洗浄液として日々の使用はその pH が 3.5-4.5 であることよりエナメル質に障害（酸蝕歯）が起りうる可能性がある。現在 pH が 7.0 近辺の中性バイオイオナースを開発し良好な抗菌効果を得ており歯周病菌 *P. gingivalis* の抗菌作用についても現在検討中である。

[謝辞]

バイオイオナース®の歯周病菌 *P. gingivalis* に対する抗菌作用試験は財団法人日本食品分析センターにて施行されその結果を用いた。

参考文献

1. 厚生労働省 平成 23 年歯科疾患実態調査. 表 V -1-1.
2. Okuda K., Ishihara K., Nakagawa T., Hirayama A., Inayama Y.: Detection of *Treponema denticola* in atherosclerotic lesions. *J Clin Microbiol* **39**:1114-1117, 2001.
3. Ishihara K., Nabuti A., Ito R., Miyachi H., Kuramitsu HK., Okuda K.: Correlation between detection rates of periodontopathic bacterial DNA in carotid coronary stenotic artery plaque and in dental plaque samples. *J Clin Microbiol* **42**:1313-1315, 2004.
4. Bahekar A A., Singh S., Saha S., Molnar J., Arora R.: The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis : a meta-analysis. *American Heart J* **154**: 830-837, 2007.
5. Dorn J M., Genco R J., Grossi S G., Falkner K L., Hovey KM., Iacoviello L., Trevisan M.: Periodontal disease and recurrent cardiovascular events in survivors of myocardial infarction (MI): the Western New York Acute MI study. *J Periodontol* **81**:502-511, 2010.
6. Bokhari S A H., Khan A A., Butt A K., Azhar M., Hanif M., Izhar M., Tatakis DN.: Non-surgical periodontal therapy reduces coronary heart disease risk markers: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol* **39**: 1065-1074, 2012.
7. Nelson R G., Shlossman M., Budding L M., Pettitt D J., Saad M F., Genco R J., Knowler W C.: Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. *Diabetes Care* **13**: 836-840, 1990.
8. Uysal KT., Wiesbrock SM., Marino MW., Hatamisligil GS.: Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF—alpha function. *Nature* **389**: 610-614, 1997.
9. Engebretson S., Chertog R., Nichols A., Hey-Hadavi J., Celenti R., Grbic J.: Plasma levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* **34**:18-24, 2007.
10. Paraskevas S., Huizinga JD., Loos BG.: A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* **35**:277-290, 2008.
11. Offenbacher S., Katz V., Fertik G., Collins J., Boyd D., Maynor G., McKaig R., Beck J.: Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* **67**:1103-1113,1996.
12. Jeffcoat M K., Geurs N C., Reddy M S., Cliver S P., Goldenberg R L., Hauth J C.: Periodontal infection and preterm birth: Results of prospective study. *J Am Dent Assoc* **132**: 875-880, 2001.
13. Lief S., Boggess K A., Murtha A P., Jared H., Madianos P N., Moss K., Beck J., Offenbacher S.: The oral conditions and pregnancy study: Periodontal status of a cohort of pregnant women. *J Periodontol* **75**: 116-126, 2004.
14. 窪田 倭, 松澤 皓三郎, 和田 雅年, 山地 信幸: 強酸性電解水にクエン酸と低濃度アルコールを添加した消毒剤 (バイオイオナース) の殺菌効果. *New Food Industry* **50**(9):43-48,2008.
15. 窪田 倭, 松澤 皓三郎, 和田 雅年, 山地 信幸: 室内噴霧消毒におけるバイオイオナース®の有用性—厨房内消毒への基礎的検討. *New Food Industry* **52**(1):55-58,2010.
16. 窪田 倭, 松澤 皓三郎, 和田 雅年, 森 勲, 山地 信幸: クエン酸を基体とした消毒剤バイオイオナース®の錠剤化および粉末化製剤の殺菌効果. *New Food Industry* **53**(4): 1-4, 2011.
17. 窪田 倭, 松澤 皓三郎, 和田 雅年, 森 勲, 松下 行利, 山地 信幸: ノロウイルスの代替としてのネコカリシウイルスに対する粉末化バイオイオナース®の不活化効果. *New Food Industry* **55**(1): 1-4, 2013.
18. 窪田 倭, 松澤 皓三郎, 和田 雅年, 森 勲, 松下 行利, 山地 信幸: 高病原性鳥インフルエンザウイルスに対する粉末化バイオイオナース®の効果について—養鶏場に於ける感染予防としての噴霧消毒剤の基礎的研究—. *New Food Industry* **55**(6): 1-4, 2013.
19. 厚生労働省 健康局総務課生活習慣病対策室: 平成 19 年国民健康・栄養調査.

ホルモンと食品成分による 時計遺伝子 *SHARPs* の発現調節機構

高木 勝広 (TAKAGI Katsuhiko)¹ 浅野 公介 (ASANO Kosuke)¹
羽石 歩美 (HANEISHI Ayumi)¹ 山田 一哉 (YAMADA Kazuya)²

¹ 松本大学人間健康学部 健康栄養学科

² 松本大学大学院 健康科学研究科

Key Words: インスリン 肝臓 遺伝子発現 シグナル伝達経路 転写因子

要旨

肥満の増加は、生活習慣病の急増という現象を引き起こしている。生活習慣病は、遺伝的な素因に加えて、環境要因（生活習慣）による負担が継続的に重なり、発症・進行する疾病である。糖尿病患者およびその予備軍は約 2,050 万人と推計されており、実に日本国民の約 6 人に 1 人の割合で現在または将来糖尿病に罹患することになる。糖尿病の 95% 以上は 2 型糖尿病で、その成因は肥満から生じるインスリン抵抗性と考えられている。したがって、インスリン作用を示す食品由来の低分子化合物を見出すことができれば、糖尿病および予備軍の治療や発症予防に有用であると思われる。

私どもは、インスリンにより誘導される転写因子として SHARP-1 および SHARP-2 (SHARPs) を同定し、それらがインスリンによる血糖低下に関与することを明らかにした。また、SHARPs 遺伝子の発現誘導をインスリン作用の指標にし、インスリン様作用を示す食品成分をスクリーニングしてきた。本稿では、SHARPs について紹介するとともに、インスリン様作用を示す食品成分について、SHARPs 遺伝子に対する発現誘導とそのメカニズムについて論述する。さらに、近年、2 型糖尿病などの生活習慣病の発症に、生物時計の機能障害が密接に関連することが指摘されているが、SHARPs は時計遺伝子としても知られているので、その点についても紹介する。

はじめに

社会情勢の変化による肥満の増加は、生活習慣病の急増という現象を引き起こしている。生活習慣病は、遺伝的な素因に加えて、食生活や運動習慣等の環境要因（生活習慣）による負担が継続的に重なり、発症・進行する疾病である。主な生活習慣病には、糖尿病・脂質異常症・高血圧・高尿酸血症・心筋梗塞・脳出血・脳梗塞・癌などがあり、日々の生活習慣の改善が病気の発症や進行予防に重要である。

近年、肥満・2 型糖尿病・癌などの生活習慣病の発症に、生物時計 (biological clock) の機能障害が密接に関連することが指摘されている。生物時計は、時計遺伝子群による転写・翻

訳のフィードバックループからなり、時計遺伝子によるタンパク質の合成と抑制のサイクルが、一日 24 時間のリズムを刻むというものである。時計遺伝子の多くは転写因子であるために、エネルギー代謝の日内リズムのみならず、エネルギーバランスの調節にも影響を与える。このリズムを正常に保つことが、生活習慣病予防に重要といえる。

1. 時計遺伝子

1-1. 時計遺伝子とは

生物は、生物時計によって駆動される 24 時間周期のリズム、サーカディアンリズム (概日リズム, circadian rhythm) を持っている。ヒト

を含む哺乳動物のサーカディアンリズムを支配する中枢時計は、脳下垂体の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, SCN) と呼ばれる部分に存在する。SCN は、約 10^4 個の神経細胞からなる一対の神経核で、光刺激による視神経からの入力を受けて、生物時計をリセットできる機能が備わっている。生物時計は、脳とは別に心臓・血管・肝臓・腎臓から皮膚・粘膜に至るまで、ほとんどの末梢組織に存在することや、さらにヒトでは数十兆という大部分の細胞で機能していることが明らかにされている。この末梢時計は、中枢時計と連動しつつ、多重の階層構造として一体となってサーカディアンリズムを創出している。

サーカディアンリズムを生み出すメカニズムの中核は、時計遺伝子と呼ばれる一連の遺伝子群の転写と翻訳を介したフィードバックループであると考えられている¹⁾。主な時計遺伝子には *Period* (*Per*)・*Cryptochrome* (*Cry*)・*Clock*・*Bmal1* が知られ、いずれも転写制御因子である。*CLOCK* と *BMAL1* は生物時計の刻みを促進する因子 (転写活性化因子) として、また *PER* と *CRY* は抑制する因子 (転写抑制因子) として機能する。これらの時計遺伝子を欠失させたマウスでは、サーカディアンリズムに異常をきたすことから、サーカディアンリズムの基本骨格を形成していると考えられる。

哺乳動物では、basic helix-loop-helix (bHLH) 型転写因子である *CLOCK* と *BMAL1* がヘテロ二量体 (*CLOCK* / *BMAL1*) を形成する。この二量体が、*Per* および *Cry* 遺伝子のプロモーター領域にある E-box 配列 (5'-CACGTG-3') に結合し、*Per* と *Cry* の遺伝子の転写を活性化する (図 1)。合成された *PER* と *CRY* は互いに結合し、*PER* / *CRY* 複合体となり、核内に蓄

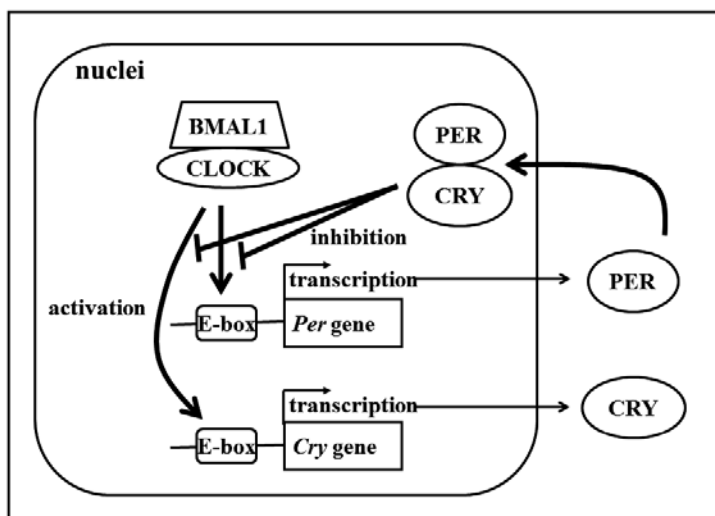


図1 サーカディアンリズム（概日リズム）を生み出す時計遺伝子によるフィードバックループ

積する。*PER* / *CRY* 複合体が一定量以上になると、*PER* / *CRY* 複合体は *CLOCK* / *BMAL1* の転写活性を阻害し、*Per* と *Cry* 遺伝子の発現量が減少する。この結果、*PER* / *CRY* 複合体が減少し、*Per* と *Cry* 遺伝子の転写が再開される。*CLOCK*・*BMAL1* といった転写活性化因子と *PER*・*CRY* などの転写抑制因子が交互に活動するために、振動が起こるのである¹⁾。

1-2. 時計遺伝子 SHARPs

ラット *enhancer of split- and hairy-related protein* (*SHARP*) は、成体ラット脳において、*hairy and enhancer of split homologue* (*HES*) サブファミリーの bHLH 間で保存されている *helix-1* と *helix-2* のアミノ酸残基に対する degenerate PCR プライマーの組み合わせによりクローニングされた遺伝子で、*SHARP-1* と *SHARP-2* (以後 *SHARPs* と略す) が知られている²⁾。

SHARP-1 は、ヒトでは Differentiated embryo chondrocyte (*DEC*) 2, マウスでは *mSHARP-1* と名付けられている。また、*SHARP-2* は、ヒトでは *DEC1*・*E47 interaction protein* (*eip47*), マウスでは *stimulated with retinoic acid 13* (*Stra13*)・*clast5* と名付けられている。bHLH 型転写因子である *SHARPs* は、核内に局在し、互いにホ

モ2量体およびヘテロ2量体を形成して E-box 配列 (5'-CACGTG-3') に結合して転写抑制因子として機能する³⁾。

DEC1 および DEC2 は、CLOCK と BMAL1 と同様に SCN および末梢組織において周期的に発現するサーカディアンリズムを示し、第5の時計遺伝子として報告された⁴⁾。DEC 欠損マウスは、サーカディアンリズムに異常をきたすため、DEC1 および DEC2 もまたサーカディアンリズムの基本骨格を形成に関与する重要な時計遺伝子の一つであるといえる^{5,6)}。

2. 糖尿病

わが国における糖尿病患者は、厚生労働省が調査をするたびに増え続けている。厚生労働省の「国民健康栄養調査」(2012年)によると、糖尿病患者は約950万人、その予備軍は約1,100万人、合わせて約2,050万人と推計されている。この数字は人口の約16%を示し、国民の約6人に1人の割合で現在または将来糖尿病に罹患するということになり、糖尿病は国民病といえる。

糖尿病は「インスリンの作用不足による慢性の高血糖状態を主徴とする代謝疾患群」と定義される。糖尿病は、その成因に基づいて、1型、2型、その他の特定の機序、疾患によるもの、妊娠糖尿病に分類される。我が国における糖尿病の95%以上は2型糖尿病である。インスリンの作用不足を来す遺伝的素因に加えて、高エネルギー食の摂食過多、運動不足などの生活習慣により肥満となり、その後インスリン抵抗性が引き起こされ、2型糖尿病が発症すると考えられる。

3. インスリン

3-1. 作用の基本的分子機構

インスリンは、生体で血糖レベルを下げる唯一のホルモンである。食後の一過的な血中グルコース濃度(血糖値)の増加が刺激となり、膵β細胞でインスリンは生合成され、血中に分泌される。インスリンの主な標的臓器は、肝臓・骨格筋・脂肪組織である。肝臓ではグルコースの放出を抑制し、グリコーゲン合成を促進する。

一方、骨格筋や脂肪細胞ではグルコースの取り込みを促進して、血糖レベルを低下させる。空腹時には、インスリン分泌が抑制され、肝臓でのグリコーゲン分解や糖新生によりグルコースが放出され、血糖レベルの維持に寄与する。

インスリンは、グルコースの取り込み促進・グリコーゲン合成促進・脂肪酸合成促進・糖新生抑制・脂質分解抑制・細胞増殖促進など様々な生物学的作用を発揮し、それら作用の多くが、phosphoinositide 3-kinase (PI 3-K) を介するシグナルによって媒介されている。インスリン作用の第一歩は、細胞表面のインスリン受容体 (insulin receptor; IR) への結合である。インスリンが IR に結合し、受容体チロシンキナーゼを活性化する。その結果、インスリン受容体基質-1 (IRS-1) をはじめとする細胞内基質のチロシン残基がリン酸化され、PI 3-K などのキナーゼ群が次々と活性化される。

インスリン作用は臓器によって異なるが、それはシグナル伝達分子に種々のアイソフォームが存在し、その発現が臓器ごとに異なるため、多様な作用を媒介すると考えられる。

3-2. 肝臓における糖新生の制御

肝臓はグリコーゲン分解と糖新生によってグルコースを産生し、グルコースの形でエネルギー源を血中に放出できる実質上唯一の臓器である。絶食時の全身のグルコース需要は肝臓からの糖新生によって充足されている。また、2型糖尿病患者の空腹時血糖上昇の主因は肝糖産生の亢進、特に糖新生に基づく糖産生が亢進することが知られており、抗糖尿病薬であるピクアナイド薬は、糖新生を抑制することにより、血糖降下作用を発揮している。

糖新生を触媒する phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) や glucose-6 phosphatase (G6Pase) などの酵素はアロステリックな活性制御を受けず、細胞内での活性は遺伝子発現の変化によって制御されている。糖新生系酵素の遺伝子発現は、グルカゴンによって増加し、インスリンによって抑制される。このような

ホルモンによる糖新生系酵素の発現は、FoxO1・CREB・HNF4 α ・KLF15 といった転写因子に加えて、CBP・CRCT2・PGC1 α ・TORC2 などの転写コアクチベーターの作用によって調節されている⁷⁻¹¹⁾。

絶食（空腹）時の肝における糖新生は転写因子 FoxO1 (forkhead box containing protein O-1) が担っており、これは摂食後のインスリン作用によって抑制される¹²⁾。FoxO1 は、インスリンが存在しない状態では核内に留まっており、PEPCK や G6Pase などの糖新生系酵素遺伝子の転写を活性化する¹³⁾。インスリンによって Akt が活性化されると FoxO1 は Akt によってリン酸化され核外に移行するため、糖新生系酵素遺伝子の発現が低下し、糖新生が抑制される。

3-3. インスリン誘導性転写因子 SHARPs

私どもは、高炭水化物摂食後に膵 β 細胞から分泌されたインスリンにより、ラット肝で発現が誘導される転写因子として SHARP-2 を同定した¹⁴⁾。肝臓における SHARP-2 mRNA の発現量は、正常ラットへの高炭水化物食の投与や糖尿病ラットへのインスリン投与により早期に増加すること、また、SHARP-2 遺伝子の発現誘導が PI 3-K 経路を介していることを明らかにした¹⁴⁾。さらに SHARP-2 を、ラット初代培養肝細胞等で過剰発現させると糖新生系酵素の PEPCK mRNA 量が有意に低下すること、および SHARP-2 発現ベクターのコトランスフェクションにより PEPCK 遺伝子のプロモーター活性が特異的に抑制されることを明らかにした¹⁵⁾。以上のことより、SHARP-2

がインスリンによる血糖低下に関与する転写因子の一つであると考えている。

また、SHARP-1 mRNA 発現量が⁸⁾、糖尿病ラットおよびラット高分化型肝癌細胞株である H4IIE 細胞へのインスリン投与により 2 時間と非常に早期に増加することを報告した (図 2¹⁶⁾)。PI 3-K 経路の阻害剤である LY294002 と wortmannin, protein kinase C (PKC) の阻害剤である staurosporine で、SHARP-1 mRNA の誘導は完全に阻害されたため、PI 3-K 経路と PKC 経路の関与が示唆された。PKC は、哺乳類では少なくとも 12 種類のアイソフォームがみつかり、classical PKC (cPKC), novel PKC (nPKC), および atypical PKC (aPKC) の 3 つのサブファミリーに分類される。また、肝臓では PI 3-K 経路の下流には、aPKC λ が存在することが知られている¹⁷⁾。そこで、aPKC λ に注目し、SHARP-1 mRNA の誘導に aPKC λ が関与するかどうかを検討した。H4IIE 細胞に、ドミナントネガティブ変異型 aPKC λ を発現するアデノウイルス (Ad-dn-aPKC λ) を感染させたところ、インスリンによる SHARP-1 mRNA 量の増加が 30% 近くまで抑制された。したがっ

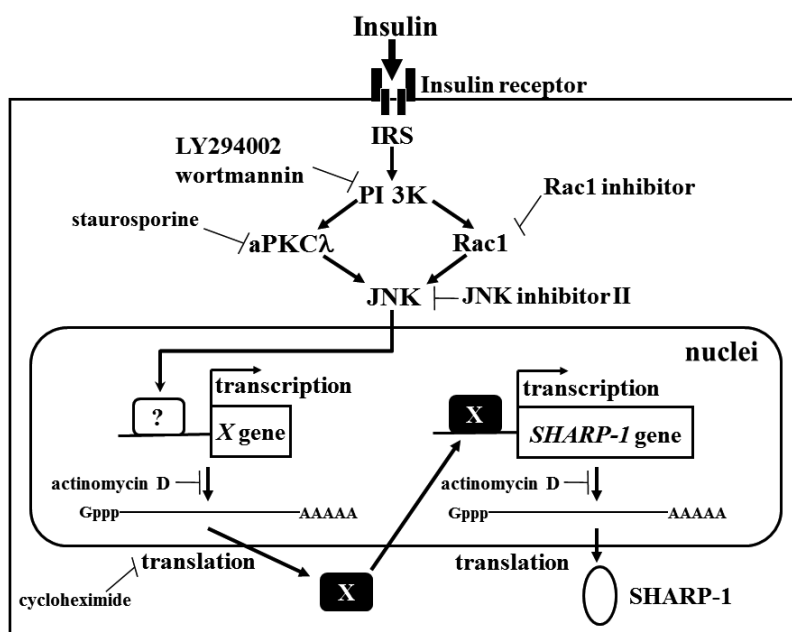


図2 インスリンによる SHARP-1 遺伝子の発現調節機構の概要

表1 インスリンによる SHARPs 遺伝子の発現調節

遺伝子名	mRNA 量	転写	タンパク質合成
SHARP-1	↑	↑	要
SHARP-2	↑	↑	N.D.

て、インスリンによる *SHARP-1* 遺伝子の発現誘導は、PI 3-K / aPKC λ 経路を介していることが明らかとなった。また、Rac1 inhibitor や Jun N-terminal kinase の阻害剤である JNK inhibitor II (JNK) により、インスリンによる *SHARP-1* mRNA の誘導は、部分的に阻害された。同様にドミナントネガティブ変異型 Rac1 を発現するアデノウイルス (Ad-dn-Rac) を感染させたところ、インスリンによる *SHARP-1* mRNA の誘導は、有意に阻害された。したがって、インスリンによる *SHARP-1* 遺伝子の発現誘導は、PI 3-K からその一部が Rac1 / JNK という経路を介して *SHARP-1* 遺伝子の転写を促進することを明らかにした。DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの阻害剤である actinomycin D、タンパク質合成阻害剤の cycloheximide で各々処理を行った結果、インスリンによる *SHARP-1* mRNA の誘導は完全に阻害されたため、この誘導には何らかのタンパク質合成を介した転写レベルでの作用であることが示唆された (図2)。さらに、*SHARP-1* 発現ベクターのコトランスフェクションにより *PEPCK* 遺伝子のプロモーター活性が特異的に抑制されることを明らかにした。以上の結果から、*SHARP-1* もまた *SHARP-2* とともに、インスリンによる血糖低下作用に関与する転写因子の一つであると考えられた (表1)。時計遺伝子である *SHARPs* 遺伝子が、食後に分泌されるインスリンによって誘導されることは、生体リズムと食習慣の関連を考えるうえで大変に興味深い。

4. インスリン様作用を示す食品成分

食品成分には様々な生理活性を有することが知られているが、肥満予防に効果があるとされ、最近、注目を集めている食品成分にポリフェノール類がある。ポリフェノール類は、「植物

界に広く分布していて、複数のフェノール性水酸基を有する物質群」とされ、ブドウの果皮・お茶の葉・ピーナッツの薄皮などにふくまれている。クロマン骨格を有するカテキン類やスチルベン骨格をもつレスベラトロールなど多様な種類が存在する。

ポリフェノール類の中でも、緑茶由来のカテキン類は比較的古くから研究されており、エネルギー消費の促進やコレステロール低下等の効用が報告されている。緑茶カテキンの (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) が、*in vivo* や *in vitro* 実験において、発がんの抑制やコラーゲン誘導関節炎・酸化ストレス誘導性神経変性病・肥満および2型糖尿病といった病態を改善する活性を有することが知られている。その他では、レスベラトロールの寿命延長活性¹⁸⁻²⁰⁾ や血糖上昇抑制作用、大豆のイソフラボンであるゲニステインやダイゼインには糖尿病の病態改善²¹⁾、フロリジン・クルクミン・ケルセチンによる血糖低下作用²²⁻²⁵⁾ など多数報告されている。

私どもは、食品由来の低分子化合物がインスリン様活性を有することを科学的に証明できれば、それらを利用して血糖調節が可能となり、将来的にはインスリン抵抗性糖尿病の予防や治療に役立つと考えている。そこで、インスリン誘導性転写因子として同定した *SHARPs* 遺伝子を指標に、それらを発現誘導する食品由来成分のスクリーニングを行ってきた。その結果、*SHARPs* mRNA の発現を誘導できる生理活性物質として、緑茶カテキンの EGCG²⁶⁻²⁸⁾ や大豆イソフラボンのゲニステイン²⁹⁾ およびダイゼインの腸内代謝産物である (*S*)-Equol³⁰⁾ を同定している。

以下、インスリン誘導性転写因子 *SHARPs* 遺伝子を発現誘導した食品成分について、その概要を述べることにする。

4-1. 緑茶カテキン

カテキン類は、多くの植物に含まれる強力な抗酸化物質であり、フラバン-3-オールを基本骨格とするフラボノイド系のポ

リフェノールである。緑茶カテキン類には、EGCG・(-)-epicatechin-3-gallate (ECG)・(-)-epigallocatechin (EGC)・(-)-epicatechin (EC)などの一群の類縁体が存在する。緑茶に含まれるカテキン類は10～20%で、その主要なものはカテキン類の約半量を占めるEGCGである。カテキン類の中でEGCGは最も生理活性が高く、抗酸化作用・抗がん作用・抗アレルギー作用・ヒトインフルエンザウイルスやヒト免疫不全ウイルス(HIV)等の抗ウイルス作用・LDLの酸化に対する抑制作用・肥満および2型糖尿病といった病態を改善する活性を有することなどが知られている³¹⁻³⁸⁾。実際、EGCGは、*in vivo*および*in vitro*において、糖新生系酵素遺伝子の発現を抑制することが報告されている^{36, 39, 40)}。そこで私どもは、EGCGによってインスリン誘導性転写因子SHARPs遺伝子の発現が誘導されるかどうかについて検討した。

4-1-1. EGCG による SHARPs 遺伝子の発現誘導

H4IIE細胞においてEGCGがSHARPs遺伝子を2時間と早期に誘導することを見いだした^{26, 28)}。これらの誘導は、インスリンによるSHARPs遺伝子の発現誘導と同様の挙動を示した。また、EGCGによるSHARPs mRNAの発現量は、EGCG無添加群に比較して、SHARP-1 mRNAでは約10倍、SHARP-2 mRNAでは約3倍であったため、EGCGによるSHARPs遺伝子の発現誘導効果は、SHARP-1に対してより強いことが明らかとなった。

(1) EGCG による SHARP-1 mRNA の誘導機構

EGCGによるSHARP-1 mRNAの誘導にどのような細胞内シグナル伝達経路が関与するかを検討した。EGCGによるSHARP-1 mRNAの誘導は、LY294002とstaurosporineにより部分的に抑制された。これらの結果より、EGCGによるSHARP-1 mRNAの誘導は、PI 3-KとPKCシグナル伝達経路を介することが示唆された。さらに、PKCのどのアイソフォームが関与するのかについて検討した。インスリンによる

SHARP-1遺伝子の発現誘導は、PI 3-K/aPKCλ経路を介しているので、aPKCλがこの誘導に関与するかどうかを検討した。Ad-dn-aPKCλを感染させたところ、EGCGによるSHARP-1 mRNA量の増加が30%近くにまで抑制された。また、EGCGによる活性型aPKCλ(リン酸化型aPKCλ)の出現もウェスタンブロット解析により確認した。これらの結果より、EGCGは、インスリンによるSHARP-1遺伝子の誘導経路と同様のPI 3-K/aPKCλシグナル伝達経路を介して、SHARP-1 mRNAを誘導すると結論した。

先の阻害剤およびAd-dn-aPKCλの感染実験では、SHARP-1 mRNAの誘導が完全に抑制されなかったため、他のシグナル伝達経路の存在が示唆された。そこで、肝臓における糖新生系酵素の転写を抑制するシグナル分子として知られるAMP-activated protein kinase (AMPK)やPI 3-K/Aktシグナル伝達経路の下流標的因子として知られるnuclear factor-kappa B (NF-κB)に注目し、検討を行った。その結果、AMPKの阻害剤であるcompound-CおよびNF-κBの阻害剤であるBAY11-7082で、EGCGによるSHARP-1遺伝子の発現上昇はそれぞれ部分的に抑制され、さらにcompound-CおよびBAY11-7082を合わせて処理した場合、この抑制は相加的であることが明らかになった²⁷⁾。さらに、AMPKの活性化剤である5-aminoimidazole-4-carboxamide 1-β-D-ribofuranoside (AICAR)で処理したところ、SHARP-1 mRNA量は濃度依存的に増加し、その経時的変化はEGCG処理時と同様であることを示した。以上の結果から、AMPKは、EGCGによるSHARP-1遺伝子の発現誘導に関わるシグナル伝達分子であることが明らかとなった。最後に、PI 3-K・AMPK・NF-κBそれぞれの阻害剤で同時に処理した場合、EGCGによるSHARP-1 mRNAの誘導は完全に阻害された。したがって、EGCGによるSHARP-1遺伝子の発現誘導には、PI 3-K/aPKCλ、AMPK、およびNF-κBの3つのシグナル伝達経路で必要かつ十分であると結論した(図3)。

(2) EGCG による SHARP-2 mRNA の発現誘導機構

EGCG による SHARP-2 mRNA の発現誘導は、LY294002 により 70% まで低下したことより、PI 3-K シグナル伝達経路を介することが示唆された。LY294002 による阻害剤実験では、EGCG による SHARP-2 mRNA の誘導は完全に抑制されなかったため、AMPK や NF- κ B のシグナル伝達経路の存在について検討した。その結果、compound-C 処理では、EGCG による SHARP-2 遺伝子の発現誘導は全く影響を受けなかったが、NF- κ B の阻害剤である BAY 11-7082 で、EGCG による誘導が約 50% 抑制された。さらに、LY294002 と BAY 11-7082 を合わせて処理を行ったところ、EGCG による誘導が完全に阻害されたため、EGCG による SHARP-2 遺伝子の発現には、インスリンによる SHARP-2 遺伝子の誘導経路と同様の PI 3-K と NF- κ B の 2 つの経路が関与することが明らかとなった。さらに、actinomycin D により SHARP-2 mRNA の誘導は完全に抑制された。このことより、EGCG による SHARP-2 遺伝子の発現誘導は、転写レベルで生じることが示された (図 4)。

EGCG は、細胞表面の 67-kDa ラミニンレセプター (67LR) に結合して作用すると考えている^{33, 41)}。一方で、生理活性の高い EGCG や ECG が共通にもつガロイル基が疎水性領域を

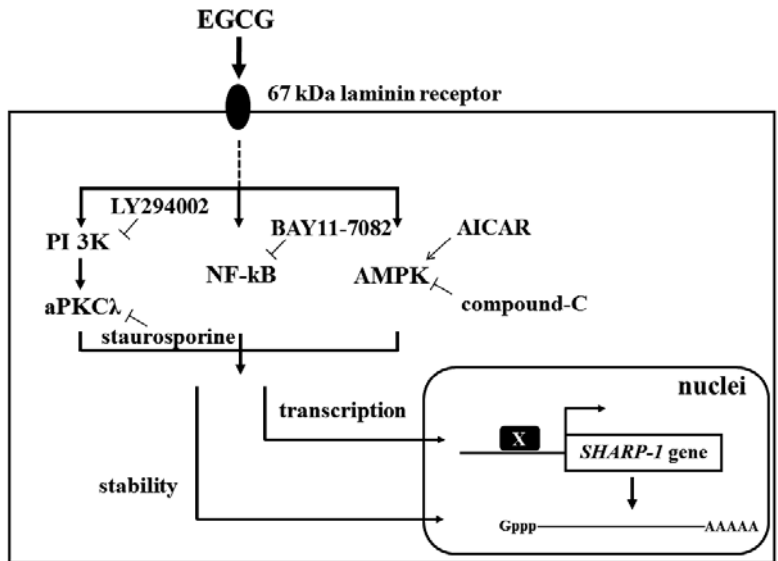


図 3 EGCG による SHARP-1 遺伝子の発現調節の概要

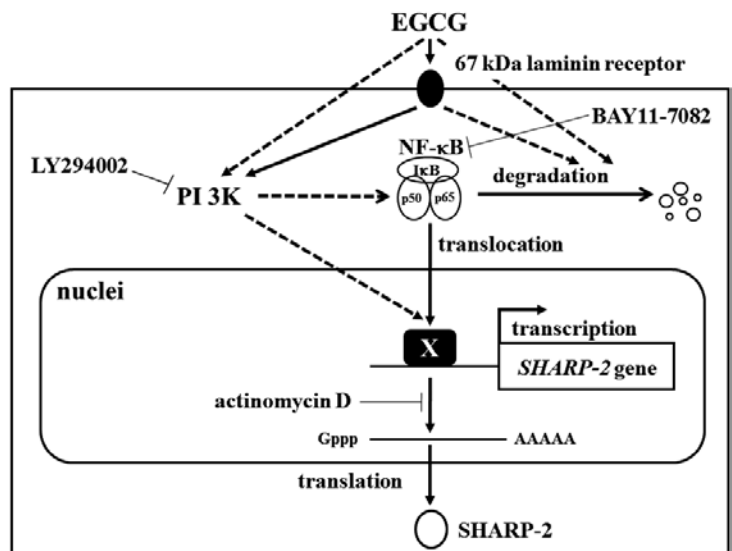


図 4 EGCG による SHARP-2 遺伝子の発現調節の概要

示すため、EGCG とリン脂質との親和性が増し、結果として脂質二重層への取り込みが起きるという報告もある⁴²⁻⁴⁴⁾。いずれにせよ、EGCG による SHARPs mRNA の発現誘導は、インスリンシグナルの中核である PI 3-K 経路を刺激すること、また、これ以外に SHARP-1 mRNA では、AMPK 経路と NF- κ B 経路の 2 つの経路を、SHARP-2 mRNA では NF- κ B 経路を介することが明らかになった (図 3, 4)。以上の結果より、

表2 食品成分による SHARPs 遺伝子の発現調節

遺伝子名	EGCG	genistein	(S)-equol
SHARP-1	↑	N.D.	N.D.
SHARP-2	↑	↑	↑

緑茶カテキンである EGCG が、インスリンシグナル伝達経路を刺激できる食品成分であることが明らかとなり、今後は、EGCG に応答する転写調節領域の同定に取り組んでいきたいと考えている (表2)。

4-2. 大豆イソフラボン

大豆イソフラボンは、大豆胚芽に含まれるフラボノイド系のポリフェノールで、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテインの非配糖体 (アグリコン) と、それぞれに糖が結合したイソフラボン配糖体 (ゲニスチン、ダイジン、グリシチン)、配糖体のアセチル化体、およびマロニル化体が知られている。

大豆イソフラボンは、女性ホルモンであるエストロゲンに分子構造が類似している。そのため生体内で核内受容体であるエストロゲン受容体 (ER: ER- α , ER- β) に結合することができ、エストロゲン様活性を示す。このことから、大豆イソフラボンは、「植物性エストロゲン」とよばれている。

イソフラボン配糖体は、一部の腸内細菌のもつ β -グルコシダーゼにより加水分解をうけ、イソフラボンアグリコンとなり吸収される。また、一部のアグリコンは、さらに腸内細菌によってさらに代謝を受けて吸収される。たとえば大豆イソフラボンの代謝産物には、ダイゼインから腸内細菌によって生成される (S)-equol や、O-デスメチルアングレンシン (O-DMA)、ゲニステインから代謝されて、生成するジハイドログニステイン等がある。

ゲニステインとダイゼインは、遺伝性肥満性糖尿病マウスにおいて、血糖低下やヘモグロビン A1c 低下等の糖尿病状態の改善に係る報告がなされている²¹⁾。また、ゲニステインを含む餌を摂食させた糖尿病ラットでの血糖低

下や、ゲニステイン処理した膵 β 細胞でのインスリン分泌促進の報告もある⁴⁵⁻⁴⁷⁾。

4-3. ゲニステインによる SHARP-2 遺伝子の発現誘導

H4IIE 細胞において、大豆イソフラボンであるゲニステインは、SHARP-2 遺伝子を2時間と非常に早期に誘導した²⁹⁾。また、その発現量は、ゲニステイン無添加群に比較して、約2.5倍であった。

ゲニステインによる SHARP-2 mRNA の誘導は、LY294002 処理でも compound-C 処理でも抑制されなかったため、PI 3-K 経路および AMPK 経路は関与しない。したがって、ゲニステインによる SHARP-2 mRNA の誘導は、インスリンによる SHARP-2 遺伝子発現の誘導機構とは異なることが明らかになった。一方、staurosporine によって SHARP-2 mRNA の誘導が阻害されたことから、SHARP-2 mRNA の誘導は PKC 経路を介する可能性が示唆された。そこで、ゲニステインがどのアイソフォームを活性化するかについて検討した。まず、cPKC の活性化剤である PMA で H4IIE 細胞を処理したところ、SHARP-2 遺伝子の発現誘導は、ゲニステイン処理と同様に非常に早期に誘導された。次に、ゲニステインで処理した H4IIE 細胞から、全細胞抽出液を調製し、PKC α に対する抗体を用いて、ウェスタンブロット解析を行った。その結果、ゲニステイン処理後5分~15分で、早期に一過性に活性化型 (リン酸化型) PKC α の誘導が認められた。また、actinomycin D や cycloheximide により SHARP-2 mRNA の誘導はそれぞれ抑制された。以上の結果より、ゲニステインによる SHARP-2 遺伝子の発現誘導は PKC 活性を介すること、誘導は転写レベルで生じ、タンパク質合成を必要とする可能性が示唆された (図5, 表2)。

4-4. 腸内代謝産物 (S)-Equol による SHARP-2 遺伝子の発現誘導

ダイゼインは、SHARP-2 遺伝子の発現を誘

導する活性を示さなかった³⁰⁾。

一般に、イソフラボンの生理活性本体は、ゲニステインやダイゼインのアグリコンに加えて、Equolであるとされる。Equolは、腸内細菌によりダイゼインから生成されるエストロゲン活性の強い腸内代謝産物で、乳がん発症のリスク軽減や閉経後の骨密度低下に対する保護効果および血糖低下作用等が報告されている⁴⁸⁻⁵²⁾。

Equolは不斉炭素原子をもつため、(S)-およ

び(R)-のジアステレオマーが存在するが、腸内細菌は、限定的に(S)-Equolを生成する。(S)-Equol産生者は、ダイゼインから(S)-Equolへ代謝する(S)-Equol産生菌を腸内に保有しており、疫学的研究では西洋人の約30%、日本人の約50%が(S)-Equol産生者であると報告されている^{53, 54)}。そこで私どもは、(S)-EquolによってSHARPs遺伝子の発現誘導ができるかどうかについて検討した。

H4IIE細胞において、(S)-EquolがSHARP-2遺伝子の発現を、2時間と早期に一過性に誘導することが明らかになった³⁰⁾。その誘導レベルは、ゲニステインによる誘導よりも高かった。各種阻害剤によるシグナル伝達経路の解析の結果、(S)-EquolによるSHARP-2 mRNAの誘導には、インスリンによるSHARP-2 mRNAの誘導経路と同様のPI 3-K経路と、ゲニステインによるSHARP-2 mRNAの誘導経路であるcPKC経路を介する可能性が示唆された。また、Ad-dn-aPKC λ を発現させたところ、SHARP-2 mRNAの誘導が部分的に抑制された。加えてウェスタンブロット解析によりaPKC λ のリン酸化レベルは、(S)-Equol処理後1分で増加し、60分まで持続することも明らかとなり、aPKC λ がSHARP-2 mRNAの誘導に関与することが証明された。

次に、ゲニステインと同様、(S)-EquolによりPKC α がリン酸化(活性化)されるかどうかについて検討した。その結果、(S)-Equol処理後5分から30分で一過性に活性型(リン酸型)PKC α が誘導された。したがって、(S)-Equol処理により、少なくともaPKC λ とPKC α の両者が活性化されることが明らかとなった。(S)-EquolによるSHARP-2 mRNAの誘導は、actinomycin Dおよびcycloheximideで阻害されたため、転写レベルで生じ、誘導には新規のタンパク質合成を必要とする可能性が示唆された。そこで、(S)-

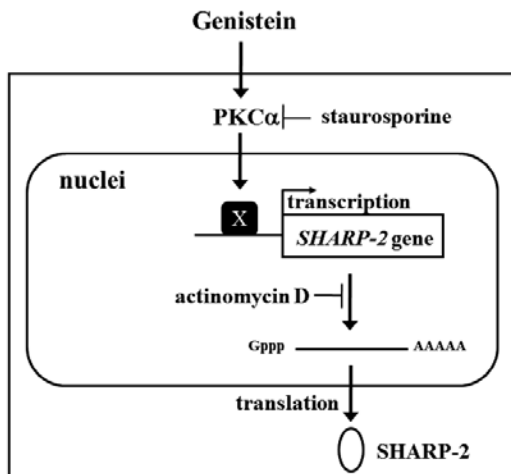


図5 ゲニステインによるSHARP-2遺伝子の発現調節の概要

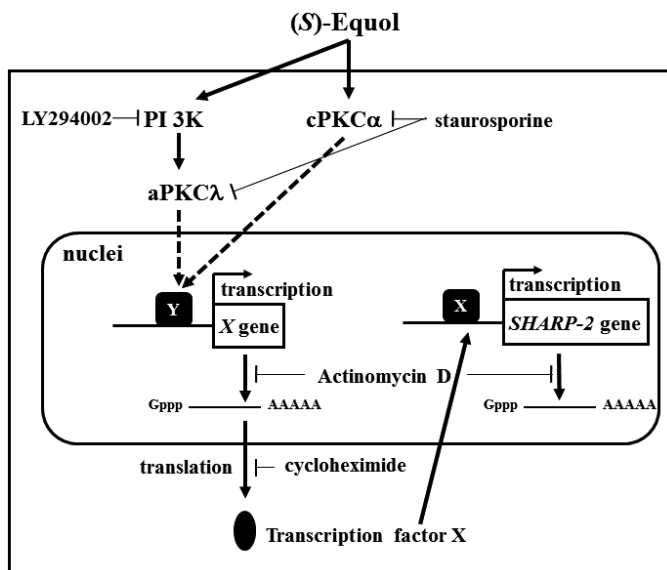


図6 (S)-equolによるSHARP-2遺伝子の発現調節の概要

Equol による *SHARP-2* 遺伝子の転写促進に関与する領域を検索するために、様々なリポータープラスミドを作製した。これらを、ラット高分化型肝癌細胞株である MH_1C_1 細胞へトランスフェクションした後、(S)-Equol 存在下・非存在下で培養し、プロモーター活性に対する影響を検討した。その結果、転写開始点上流 4,687 bp ~ 4,133 bp の領域に、(S)-Equol に応答する領域が存在することが明らかとなった。したがって、(S)-Equol は PI 3-K 経路を介し、下流の $\text{aPKC}\lambda$ と $\text{cPKC}\alpha$ の両者の活性化を引き起こして、未知の転写因子を活性化し、*SHARP-2* 遺伝子の上流 4,687 bp ~ 4,133 bp の塩基配列に作用して、転写を誘導すると結論した。

すなわち、(S)-Equol は、インスリンによる *SHARP-2* mRNA の誘導経路と同様の PI 3-K 経路とその下流の $\text{aPKC}\lambda$ の活性化、およびゲニステインと同様の $\text{cPKC}\alpha$ の活性化を介して、*SHARP-2* mRNA を誘導することが明らかとなった (図 6)。以上の結果より、(S)-Equol は、インスリンシグナル伝達経路を刺激できる生理活性物質であることが明らかとなった (表 2)。

ヒトにおける (S)-Equol 産生能は、食生活に影響を受ける可能性が疫学的研究により示唆されている。すなわち、(S)-Equol 産生は、炭水化物からのエネルギー摂取量が多い場合、あるいは食物繊維、緑茶、魚油の摂取量と相関することが報告されている^{55, 56)}。(S)-Equol 産生菌の多くはヒト由来で、*Streptococcus intermedius*・*Bacteroides ovatus*・*Lactobacillus garvieae*・

Slackia sp. strain NATTS など世界中で単離・同定されており^{57, 58)}、今後は、食品への応用が期待される。

おわりに

食後、膵臓からインスリンが分泌され、標的である糖質・脂質代謝系酵素遺伝子群の発現が調節 (特に *PEPCK* を含む糖新生系酵素遺伝子の発現が抑制) され、血糖低下が生じる。インスリン以外の生理活性物質、特に食品成分によって、インスリンシグナル伝達経路を刺激できれば、血糖低下が生じることが期待できる。これは、予備軍を含めて約 2,050 万人といわれる糖尿病患者の治療や発症の予防になることに加え、生活習慣病をもたらすメタボリックシンドロームの原因である肥満をも予防できると思われる。その社会的意義は計り知れない。

私どもは、ポリフェノール化合物を中心に検索を続け、血糖低下に有用な食品成分を見出すことができた。今後は、ポリフェノール化合物以外の物質からも血糖降下作用のある食品成分を広く検索していきたい。

[謝辞]

本研究は文部科学省の科学研究費 (基盤研究 C 21500798・24501002・26450167)、松本大学学術研究助成、2008 年度第 6 回花王健康科学研究助成金、(財) 不二たんぱく質研究振興財団平成 20 年度 (第 12 期研究助成) による援助を受けて行われた。ここに深謝する。

参考文献

1. Dunlap, J.C., Molecular bases for circadian clocks. *Cell* **96** (2): 271-290, 1999.
2. Rossner, M.J., Dorr, J., Gass, P., *et al.*, SHARPs: mammalian enhancer-of-split- and hairy-related proteins coupled to neuronal stimulation. *Mol. Cell. Neurosci.* **10**: 460-475, 1997.
3. Yamada, K. and Miyamoto, K., Basic helix-loop-helix transcription factors, BHLHB2 and BHLHB3; their gene expressions are regulated by multiple extracellular stimuli. *Front. Biosci.* **10**: 3151-3171, 2005.
4. Honma, S., Kawamoto, T., Takagi, Y., *et al.*, Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature* **419**: 841-844, 2002.
5. Nakashima, A., Kawamoto, T., Honda, K.K., *et al.*, DEC1 modulates the circadian phase of clock gene expression. *Mol Cell Biol* **28** (12): 4080-4092, 2008.
6. Rossner, M.J., Oster, H., Wichert, S.P., *et al.*, Disturbed clockwork resetting in Sharp-1 and Sharp-2 single and

- double mutant mice. *PLoS One* **3** (7): e2762, 2008.
7. Yoon, J.C., Puigserver, P., Chen, G., *et al.*, Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature* **413** (6852): 131-138, 2001.
8. Zhou, X.Y., Shibusawa, N., Naik, K., *et al.*, Insulin regulation of hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB-binding protein. *Nat Med* **10** (6): 633-637, 2004.
9. Koo, S.H., Flechner, L., Qi, L., *et al.*, The CREB coactivator TORC2 is a key regulator of fasting glucose metabolism. *Nature* **437** (7062): 1109-1111, 2005.
10. Choi, J.H., Park, M.J., Kim, K.W., *et al.*, Molecular mechanism of hypoxia-mediated hepatic gluconeogenesis by transcriptional regulation. *FEBS Lett* **579** (13): 2795-2801, 2005.
11. He, L., Sabet, A., Djedjos, S., *et al.*, Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein. *Cell* **137** (4): 635-646, 2009.
12. Oh, K.J., Han, H.S., Kim, M.J., *et al.*, CREB and FoxO1: two transcription factors for the regulation of hepatic gluconeogenesis. *BMB Rep* **46** (12): 567-574, 2013.
13. Accili, D. and Arden, K.C., FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation. *Cell* **117** (4): 421-426, 2004.
14. Yamada, K., Kawata, H., Shou, Z., *et al.*, Insulin induces the expression of the *SHARP-2/Stra13/DEC1* gene via a phosphoinositide 3-kinase pathway. *J. Biol. Chem.* **278**: 30719-30724, 2003.
15. Yamada, K., Ogata-Kawata, H., Matsuura, K., *et al.*, SHARP-2/ Stra13/ DEC1 as a potential repressor of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression. *FEBS Lett.* **579**: 1509-1514, 2005.
16. Takagi, K., Asano, K., Haneishi, A., *et al.*, Insulin stimulates the expression of the SHARP-1 gene via multiple signaling pathways. *Horm Metab Res* **46** (6): 397-403, 2014.
17. Matsumoto, M., Ogawa, W., Akimoto, K., *et al.*, PKC λ in liver mediates insulin-induced SREBP-1c expression and determines both hepatic lipid content and overall insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* **112** (6): 935-944, 2003.
18. Howitz, K.T., Bitterman, K.J., Cohen, H.Y., *et al.*, Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* **425** (6954): 191-196, 2003.
19. Wood, J.G., Rogina, B., Lavu, S., *et al.*, Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **430** (7000): 686-689, 2004.
20. Baur, J.A., Pearson, K.J., Price, N.L., *et al.*, Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **444** (7117): 337-342, 2006.
21. Ae Park, S., Choi, M.S., Cho, S.Y., *et al.*, Genistein and daidzein modulate hepatic glucose and lipid regulating enzyme activities in C57BL/KsJ-db/db mice. *Life Sci* **79** (12): 1207-1213, 2006.
22. Masumoto, S., Akimoto, Y., Oike, H., *et al.*, Dietary phloridzin reduces blood glucose levels and reverses Sglt1 expression in the small intestine in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Agric Food Chem* **57** (11): 4651-4656, 2009.
23. Kim, T., Davis, J., Zhang, A.J., *et al.*, Curcumin activates AMPK and suppresses gluconeogenic gene expression in hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* **388** (2): 377-382, 2009.
24. Kobori, M., Masumoto, S., Akimoto, Y., *et al.*, Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice. *Mol Nutr Food Res* **53** (7): 859-868, 2009.
25. Youl, E., Bardy, G., Magous, R., *et al.*, Quercetin potentiates insulin secretion and protects INS-1 pancreatic beta-cells against oxidative damage via the ERK1/2 pathway. *Br J Pharmacol* **161** (4): 799-814, 2010.
26. Asano, K., Takagi, K., Haneishi, A., *et al.*, (-)-Epigallocatechin-3-gallate enhances the expression of an insulin-inducible transcription factor gene via a phosphoinositide 3-kinase/atypical protein kinase C lambda pathway. *J Agric Food Chem* **59** (24): 13360-13364, 2011.
27. Asano, K., Takagi, K., Haneishi, A., *et al.*, (-)-Epigallocatechin-3-gallate stimulates both AMP-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Food Chem* **134** (2): 783-788, 2012.
28. Haneishi, A., Takagi, K., Asano, K., *et al.*, Analysis of induction mechanisms of an insulin-inducible transcription factor SHARP-2 gene by (-)-epigallocatechin-3-gallate. *J Agric Food Chem* **60** (39): 9850-9855, 2012.
29. Haneishi, A., Takagi, K., Asano, K., *et al.*, Genistein stimulates the insulin-dependent signaling pathway. *Front Biosci (Elite Ed)* **3**: 1534-1540, 2011.
30. Haneishi, A., Takagi, K., Asano, K., *et al.*, Analysis of regulatory mechanisms of an insulin-inducible SHARP-2 gene by (S)-Equol. *Arch Biochem Biophys* **525** (1): 32-39, 2012.
31. Cabrera, C., Artacho, R., and Gimenez, R., Beneficial effects of green tea--a review. *J Am Coll Nutr* **25** (2): 79-99, 2006.
32. Yang, C.S., Maliakal, P., and Meng, X., Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **42**:

- 25-54, 2002.
33. Fujimura, Y., Umeda, D., Kiyohara, Y., *et al.*, The involvement of the 67 kDa laminin receptor-mediated modulation of cytoskeleton in the degranulation inhibition induced by epigallocatechin-3-O-gallate. *Biochem Biophys Res Commun* **348** (2): 524-531, 2006.
34. Shankar, S., Ganapathy, S., and Srivastava, R.K., Green tea polyphenols: biology and therapeutic implications in cancer. *Front. Biosci.* **12**: 4881-4899, 2007.
35. Moon, H.S., Lee, H.G., Choi, Y.J., *et al.*, Proposed mechanisms of (-)-epigallocatechin-3-gallate for anti-obesity. *Chem Biol Interact* **167** (2): 85-98, 2007.
36. Wolfram, S., Effects of green tea and EGCG on cardiovascular and metabolic health. *J Am Coll Nutr* **26** (4): 373S-388S, 2007.
37. Li, S., Hattori, T., and Kodama, E.N., Epigallocatechin gallate inhibits the HIV reverse transcription step. *Antivir Chem Chemother* **21** (6): 239-243, 2011.
38. Kim, M., Kim, S.Y., Lee, H.W., *et al.*, Inhibition of influenza virus internalization by (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Antiviral Res* **100** (2): 460-472, 2013.
39. Waltner-Law, M.E., Wang, X.L., Law, B.K., *et al.*, Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem* **277** (38): 34933-34940, 2002.
40. Collins, Q.F., Liu, H.Y., Pi, J., *et al.*, Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, suppresses hepatic gluconeogenesis through 5'-AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* **282** (41): 30143-30149, 2007.
41. Tachibana, H., Koga, K., Fujimura, Y., *et al.*, A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nat Struct Mol Biol* **11** (4): 380-381, 2004.
42. Kajiya, K., Kumazawa, S., and Nakayama, T., Steric effects on interaction of tea catechins with lipid bilayers. *Biosci Biotechnol Biochem* **65** (12): 2638-2643, 2001.
43. Kajiya, K., Kumazawa, S., and Nakayama, T., Effects of external factors on the interaction of tea catechins with lipid bilayers. *Biosci Biotechnol Biochem* **66** (11): 2330-2335, 2002.
44. Kumazawa, S., Kajiya, K., Naito, A., *et al.*, Direct evidence of interaction of a green tea polyphenol, epigallocatechin gallate, with lipid bilayers by solid-state Nuclear Magnetic Resonance. *Biosci Biotechnol Biochem* **68** (8): 1743-1747, 2004.
45. Lee, J.S., Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* **79** (16): 1578-1584, 2006.
46. Sorenson, R.L., Brelje, T.C., and Roth, C., Effect of tyrosine kinase inhibitors on islets of Langerhans: evidence for tyrosine kinases in the regulation of insulin secretion. *Endocrinology* **134** (4): 1975-1978, 1994.
47. Persaud, S.J., Harris, T.E., Burns, C.J., *et al.*, Tyrosine kinases play a permissive role in glucose-induced insulin secretion from adult rat islets. *J Mol Endocrinol* **22** (1): 19-28, 1999.
48. Setchell, K.D., Brown, N.M., and Lydeking-Olsen, E., The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr* **132** (12): 3577-3584, 2002.
49. Magee, P.J., Is equol production beneficial to health? *Proc Nutr Soc* **70** (1): 10-18, 2011.
50. Nordentoft, I., Jeppesen, P.B., Hong, J., *et al.*, Increased insulin sensitivity and changes in the expression profile of key insulin regulatory genes and beta cell transcription factors in diabetic KKAY-mice after feeding with a soy bean protein rich diet high in isoflavone content. *J Agric Food Chem* **56** (12): 4377-4385, 2008.
51. Lu, M.P., Wang, R., Song, X., *et al.*, Dietary soy isoflavones increase insulin secretion and prevent the development of diabetic cataracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res* **28** (7): 464-471, 2008.
52. Thorp, A.A., Howe, P.R., Mori, T.A., *et al.*, Soy food consumption does not lower LDL cholesterol in either equol or nonequol producers. *Am J Clin Nutr* **88** (2): 298-304, 2008.
53. Setchell, K.D. and Cole, S.J., Method of defining equol-producer status and its frequency among vegetarians. *J Nutr* **136** (8): 2188-2193, 2006.
54. Arai, Y., Uehara, M., Sato, Y., *et al.*, Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. *J Epidemiol* **10** (2): 127-135, 2000.
55. Lampe, J.W., Karr, S.C., Hutchins, A.M., *et al.*, Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. *Proc Soc Exp Biol Med* **217** (3): 335-339, 1998.
56. Rowland, I.R., Wiseman, H., Sanders, T.A., *et al.*, Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans: influence of habitual diet on equol production by the gut microflora. *Nutr Cancer* **36** (1): 27-32, 2000.
57. Tsuji, H., Moriyama, K., Nomoto, K., *et al.*, Isolation and characterization of the equol-producing bacterium *Slackia* sp. strain NATTS. *Arch Microbiol* **192** (4): 279-287, 2010.
58. Tsuji, H., Moriyama, K., Nomoto, K., *et al.*, Identification of an enzyme system for daidzein-to-equol conversion in *Slackia* sp. strain NATTS. *Appl Environ Microbiol* **78** (4): 1228-1236, 2012.

松の実殻アルカリ抽出液 (SPN) の 生物活性と今後の展望

Biological activity and future prospect of alkaline extract of pine seed shell

坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)¹ 佐藤 和恵 (SATO Kazue)^{1,2} 加藤 崇雄 (KATO Takao)^{1,3}
下山 哲夫 (SHIMOYAMA Tetsuo)³ 金本 大成 (KANAMOTO Taisei)⁴
寺久保 繁美 (TERAKUBO Shigemi)⁴ 中島 秀喜 (NAKASHIMA Hideki)⁴
須永 克佳 (SUNAGA Katsuyoshi)⁵ 津田 整 (TSUDA Tadashi)⁵ 牧 純 (MAKI Jun)^{1,6}
吉原 正晶 (YOSHIHARA Masaaki)⁷

¹ 明海大学歯学部 病態診断治療学講座 薬理学分野 ² 昭和大学医学部 解剖学講座 顕微解剖学部門
³ 埼玉医科大学総合医療センター 歯科口腔外科 ⁴ 聖マリアンナ医科大学医学部 微生物学教室
⁵ 城西大学薬学部 医療栄養学科 薬物療法学講座 ⁶ 松山大学薬学部 生体環境系薬学講座 感染症学研究室
⁷ 日本三晶製薬株式会社

Key Words : 松の実殻 アルカリ抽出液 SPN 抗ウイルス活性 口内炎 口腔疾患

Abstract.

Alkaline extract of pine seed shell (SPN-1 and SPN-2) showed antitumor and antimicrobial activity in mice, and anti-viral and anti-inflammatory activities *in vitro*, stimulating the iodination of myeloperoxidase-positive cells. On the other hand, they showed weak radical scavenging and anti-UV activities, and potently inhibited CYP3A4 activity. These characteristics of SPN-1/-2 suggest their possible application to virally induced oral diseases and synergistic stimulation of dental drugs.

要旨

五葉松の実の殻のアルカリ抽出液 (SPN-1 及び SPN-2) は、移植マウスにおける抗腫瘍及び抗菌作用、試験管内における抗ウイルス、抗炎症、ミエロペルオキシダーゼ陽性細胞のヨード化の促進作用を示した。しかし、ラジカル消去や紫外線細胞防護効果は弱く、CYP3A4 阻害活性は比較的強かった。これらの SPN の特徴は、口腔内ウイルス性疾患の治療、歯科用薬剤との作用増強などへの応用の可能性を示唆する。

連絡先 : 〒 350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

明海大学歯学部 病態診断治療学講座 薬理学分野

坂上 宏

Tel : 049-279-2758

Fax : 049-285-5171

E-mail : sakagami@dent.meikai.ac.jp

〒 462-0012 愛知県名古屋市区楠 4-818

日本三晶製薬株式会社

吉原 正晶

Tel : 052-909-5556

Fax : 052-903-1970

E-mail : boss1@matsunomi.co.jp

はじめに

世界では20種ほどの松の種子が食用に供されている。その中で、大型種子を形成するマツ類の種子は、アジア東北部、ヨーロッパ、中東（東地中海地方）、北米大陸など世界各地に分布している。高級盆栽として有名な「五葉松」は、モンゴル、ロシア、中国および韓国北部に広がる標高が高く、極寒の地に自生している生命力の強い植物である。1 cm ほどの種子は20～30 mにも成長し約15年で松ぼっくりをつける。20～30 cmにもなる大きな松ぼっくり1つに、約150個の種子がつく。古い中国の薬学書・本草綱目には、松の実は「関節痛を取り除き、髪の毛を生やし、内蔵を強化し、滋養強壮作用により長生きができる生薬である」と紹介されている。今でも松の実は、中華料理やイタリア料理によく使われている。

日本三晶製薬では、取れたての新鮮な種子をそのままを輸入し、日本国内で加工している。五葉松の種子は、硬い殻と白い実に分けられ、

殻からはエキスを、実からはオイルを抽出している。松の実オイルにのみ含まれる「ピノレン酸」には、炎症や痒みの抑制、空腹の抑制、肌細胞の活性化、コレステロール値の低下作用がある。また、種子の殻から抽出したエキス・SPN（スパン）には卓越した抗ウイルス作用および抗炎作用がある（図1左）。松の実を原料にした製品群を図2に示す。

我々は、民間伝承で消化器系の癌に有効とされる五葉松の松かさから抗腫瘍成分を分離する研究を1985年から開始した。松かさをエタノールで脱脂後、熱水抽出した。6倍量のエタノールを添加して沈殿させ、DEAE セルロースカラムにかけ、未吸着画分（中性多糖）、0.5 M NaCl, 2 M NaCl, そして0.15 M NaOHで溶出される画分にわけ、腹水腫瘍移植ICRマウスの生存日数を延命させる活性を比較検討した。その結果、抗腫瘍活性は、中性多糖ではなく、DEAE セルロースカラムに強く吸着する画分に集中することが判明した。そこで、熱水抽出後

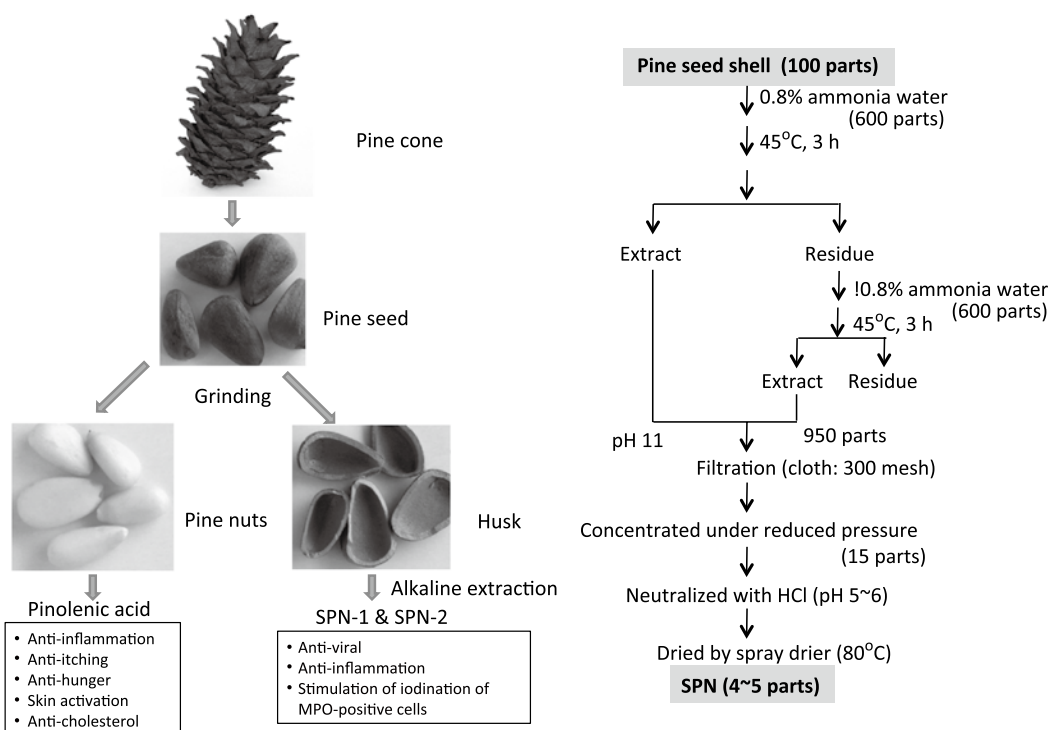


図1 松の実の殻からのSPNの調製

の残渣をアルカリ抽出し、pH 5 で沈殿する分画（Fr. VI）と、その上清に等量のエタノールを添加して沈殿する分画（Fr. VII）を得たところ、より高い抗腫瘍活性を得ることができた¹⁾。機器分析の結果、抗腫瘍活性の本体は、リグニン配糖体であることが判明した。リグニン部分が抗ウイルス活性発現に、配糖体部分が、抗腫瘍・抗菌活性の発現に関与することが示唆された²⁾。DNA アレー解析により、配糖体部分は、おそらく dectin-2 を介して免疫増強に関与する可能性が示唆された³⁾。これら五葉松の松かさで得られた情報をもとに、五葉松の松の実の殻から、揮発性のアンモニア水（pH 11）を用いて、SPN を調製した（図 1 右）。我々の SPN の

生物活性に関する 6 つの研究論文⁴⁻⁹⁾ を表 1 にまとめた。今回、SPN に関する研究を概説し、新しい研究の紹介と、今後の研究の方向性について述べた。

1. 抗腫瘍活性

ICR マウスの腹腔の腹腔に 1×10^6 個の sarcoma-180 を移植すると、マウスの生存日数は 16.1 ～ 18.6 日であった。癌細胞を移植後 24 時間目に、SPN を 10 mg/kg 腹腔に投与すると、生存日数は、1.94 ～ 2.20 倍延命した⁴⁾。

2. 抗菌活性

ICR マウスの腹腔内に大腸菌を移植すると、

5 日後の生存マウス数は、7%（61 匹中 4 匹）であったが、大腸菌接種の 48 時間前に 10 mg/kg の SPN を腹腔内に投与すると、生存マウス数は、78%（40 匹中 31 匹）に上昇した⁴⁾。より高濃度の SPN（40 mg/kg）は、肺炎桿菌（生存率 80% vs 対照 20%），黄色ブドウ球菌（生存率 50% vs 対照 20%）に対しても抗菌活性を示した。しかし、緑膿菌（生存率 20%），サルモネラ菌（生存率 0%），カンジダ菌（生存率 10%）に対しては無効であった⁵⁾。SPN の投与ルートとしては、腹腔内投与が最大

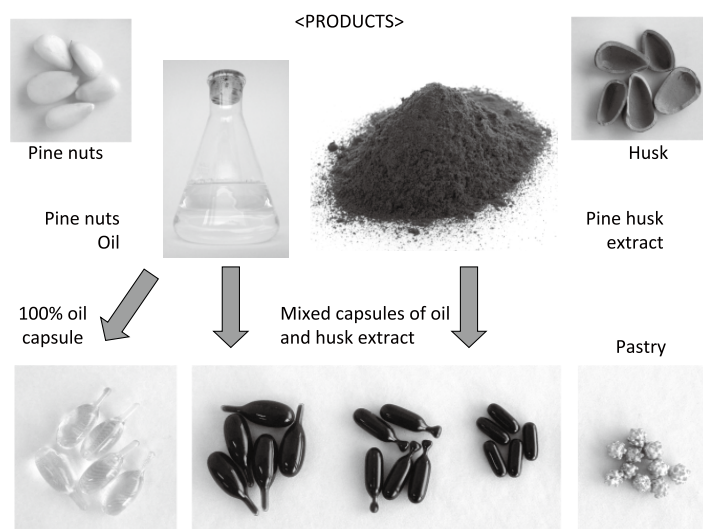


図 2 松の実を原料にした製品群

表 1 SPN の生物作用

生物作用	実験系	文献
抗腫瘍作用	腹腔内腫瘍移植マウスの延命効果	4
抗菌作用	腹腔内菌体移植マウスの延命効果 好中球の蓄積と活性酸素の生成	4, 5 4
抗ウイルス作用	ヒト免疫不全ウイルスの細胞変性効果の抑制 ヘルペスウイルスのプラーク形成の抑制 ロタウイルス、エンテロウイルスの増殖の抑制	5 6 7
ヨード化の促進	HL-60 細胞の酸不溶性画分への Na^{125}I 取り込みの促進	8
活性酸素の消去	スーパーオキシドアニオンの消去（ESR 法）	9
抗 UV 活性	紫外線誘導性細胞死の抑制	本研究
抗炎症作用	IL-1 β 刺激ヒト歯肉線維芽細胞による PGE ₂ 産生の抑制	本研究
CYP3A4 阻害活性	テストステロンの β -水酸化の阻害	本研究

の抗大腸菌活性を与え (生存率 90%), 以下, 静脈内 (50%), 筋肉内 (30%), 経口投与 (10%) の順に低下した。

SPN を腹腔内投与すると, 腹腔滲出細胞によるルミノール化学発光 (活性酸素) の強さは, 22×10^3 cpm (コントロール) から $156 \sim 3189 \times 10^3$ cpm (SPN 処理群) に増加した。この結果は, SPN による抗菌活性の誘導には, 腹腔細胞による活性酸素の産生の増大が関与する可能性を示唆する⁴⁾。

3. 抗ウイルス活性

細胞が, ヒト免疫不全ウイルス (HIV) に感染すると, 感染細胞の細胞膜表面に発現したウイルスの膜タンパク質の働きによって, 隣接した非感染細胞との融合が形成される。SPN (31 ~ 500 $\mu\text{g/ml}$) を投与すると, この融合が最大 36% 阻害された⁵⁾。また, SPN-1 と SPN-2 は, HIV 感染による細胞変性効果を抑制した。それぞれの有効係数 (SI) は 23 および 74 であり, 松かさリグニン配糖体 (SI=17) よりも強い活性を示した (図 3)。

タイのチェンマイにある病院で, 非公式に 12 名のエイズ患者に SPN のカプセルを 1 日 3 粒, 2 ヶ月間投与したところ, CD4/CD8 比が

改善した。また, その内の一人は, より顕著に改善が見られ, 血中のウイルス量も検出限界以下まで低下した。多数のエイズ患者に対する大規模な臨床試験が必要であるが, エイズ患者に対する臨床応用が期待される。

SPN (10 $\mu\text{g/ml}$) は, 単純ヘルペスウイルス HSV-1 (strain HF) のアフリカミドリザル腎細胞 CV-1 におけるブラーク形成を完全に阻害した⁶⁾。SPN (250 および 62.5 $\mu\text{g/ml}$) は, それぞれ, ヒトコタウイルス (strain Wa), ポリオウイルス (strain Sabin 1) の増殖を完全に抑制した⁷⁾。

4. ヨード化の促進

多形核白血球 (好中球) のヨード化 (放射性ヨード Na^{125}I の細胞酸不溶性画分への取り込み) と, 抗菌効果の関係がクレバノフらにより報告されている。我々は, 好中球への分化誘導能を有し, 好中球と同様にミエロペルオキシダーゼ陽性作用であるヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 のヨード化が好中球のヨード化とよく相関することを報告した。SPN (1 mg/ml) は, HL-60 細胞のヨード化を約 25 ~ 66 倍促進することを見出した⁸⁾。SPN は好中球のミエロペルオキシダーゼを活性化し, 生成した次亜塩素酸により抗菌活性を発現する可能性が示唆

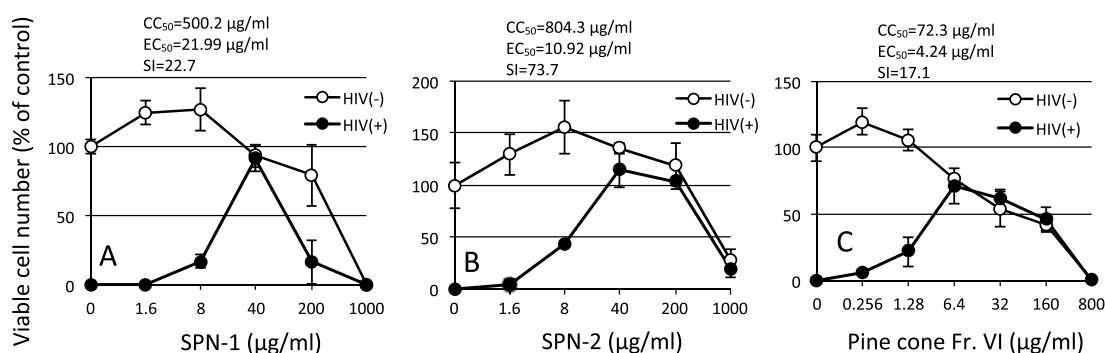


図 3 96 穴マイクロタイタープレートに, 種々の濃度の試験物質とともに HIV 感染 MT-4 細胞 (3.0×10^4 /well, MOI: 0.01) を感染直後に加える。試験物質の MT-4 細胞に対する細胞毒性を知るために, ウイルス非感染細胞を同様に種々の濃度の試験物質とともに培養を行う。CO₂ インキュベーターで 37°C 5 日間培養した後, MTT 法で生存細胞数を測定した。抗ウイルス活性は, HIV 感染による細胞傷害を 50% protection する濃度 (EC₅₀; 50% effective concentration), 細胞毒性は試験物質による 50% 細胞傷害濃度 (CC₅₀; 50% cytotoxic concentration) でそれぞれ表現している。有効係数 (Selectivity Index; SI) は CC₅₀/EC₅₀ として計算した。

された。

5. 活性酸素の消去

ヒポキサンチン-キサンチンオキシダーゼ反応で生成したスーパーオキシドアニオン、フェントン反応（酸性条件で過酸化水素と二価の鉄化合物を触媒的に反応させる方法）で生成したヒドロキシルラジカルをスピントラップ剤のDMPOで捕捉して、それぞれ、DMPO-OOH, DMPO-OHとしてESRを用いてラジカル強度を測定した⁹⁾。SPN-1およびSPN-2のスーパーオキシドアニオン消去能は、松かさリグニン配糖体 (Fr. VI) の約1/9, タンニンの基本構造である没食子酸の約1/2000, ビタミンCの約1/80であった。また、SPN-1およびSPN-2のヒドロキシルラジカル消去能は、松かさリグニン配糖体の約1/8, 没食子酸の約1/250, ビタミンCの約1/160であった (表2)。ヒドロキシルラジカルは活性酸素分子種のなかでは最も反応性が高く、最も酸化力が強い。そのため、DNAのグアニンやアデニンを酸化してしまい突然変異の原因になる。SPNは、若干のヒドロキシルラジカル消去活性を有するので、癌化予防に役立つ可能性がある。

6. 紫外線防護効果

紫外線に対して感受性の高いヒト口腔扁平上皮癌細胞HSC-2をリン酸緩衝液中で紫外線照射し、通常の培地に置換して培養すると、アポトーシスを誘導して死滅する。紫外線照射時に、リグニン配糖体やビタミンCを添加すると、紫外線誘発性細胞死は、有意に抑制される (有効係数SI=5.2, 66.7) (図4C, D)。これに対して、

SPN-1およびSPN-2は、抗UV活性が弱かった (SI=0.76, 1.3) (図4A, B)。抗UV活性とラジカル消去活性は相関するのかも知れない。

7. 抗炎症作用

ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) は、IL-1 β で活性化すると、IL-6, IL-8, MCP-1, PGE₂などの炎症性物質の産生を有意に促進する¹⁰⁾。そのため、この系は、ヒトの歯肉炎モデル系として、多くの研究者に使用されている。まず、IL-1 β が、HGFのみならずヒト歯根膜線維芽細胞 (HPLF) によるPGE₂の産生を有意に増加させることを確認した (図5)。次に、SPN-1, SPN-2, 松かさリグニン配糖体 (FR. VI) がPGE₂の産生を抑制するか否かを検討した。その結果、これらの物質いずれも濃度依存的に、IL-1 β で活性化されたHGFあるいはHPLFによるPGE₂の産生を抑制することが判明した (図5)。

8. CYP3A4 阻害活性

CYP3A4活性は、ヒト組み換え型CYP3A4によるテストステロンの6 β -位の水酸化活性により測定した。SNP-1, SNP-2, 松かさ由来リグニン配糖体 (Fr. VI) は、濃度依存的にテストステロンの6 β -位の水酸化を阻害した。松かさ由来リグニン配糖体は、最も強くCYP3A4を阻害した (IC₅₀=11 μ g/ml)。続いて、SNP-1が強い阻害活性を示し (IC₅₀=93 μ g/ml), SPN-2の阻害活性は最も軽微であった (IC₅₀=194 μ g/ml) (図6)。SPNのCYP3A4阻害活性は、グレープフルーツジュース (IC₅₀=65 μ g/ml)¹¹⁾ に比べ若干弱かった。

表2 SPN-1 および SPN-2 のラジカル消去活性

サンプル	ラジカル消去活性 (IC ₅₀ : μ g/ml)	
	スーパーオキシドアニオン	ヒドロキシルラジカル
SPN-1	639	858
SPN-2	555	784
リグニン配糖体 (Fr. VI)	71	109
没食子酸	0.3	3
ビタミンC	7	5

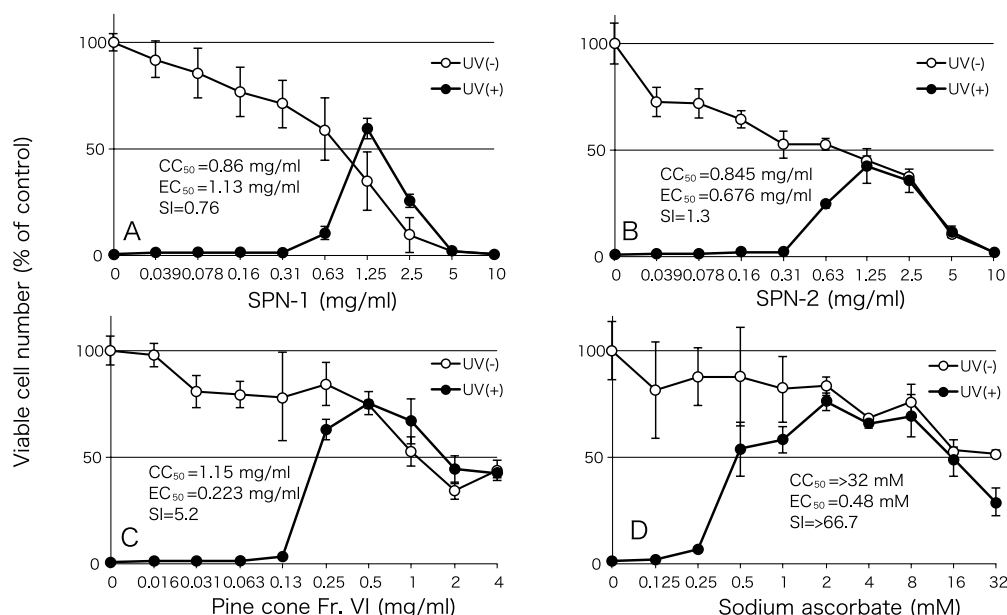


図4 SPN-1 および SPN-2 の抗 UV 活性. ヒト扁平上皮癌細胞 HSC-2 を, リン酸緩衝液に種々の濃度の SPN-1 (A), SPN-2 (B), 松かさリグニン配糖体 (C), ビタミン C (D) 存在下で, 紫外線照射 (UV+, 6 J/m²/min, 1 min) あるいは未照射 (UV-) し, 新鮮培地に置換して 48 時間培養し, 生細胞数を MTT 法により測定した。各点は, 平均値±S.D. (n=3) を示す。有効係数 (SI) は, 50% 細胞傷害濃度 (CC₅₀) を, 50% の細胞が生存する濃度 (EC₅₀) で割って求めた。

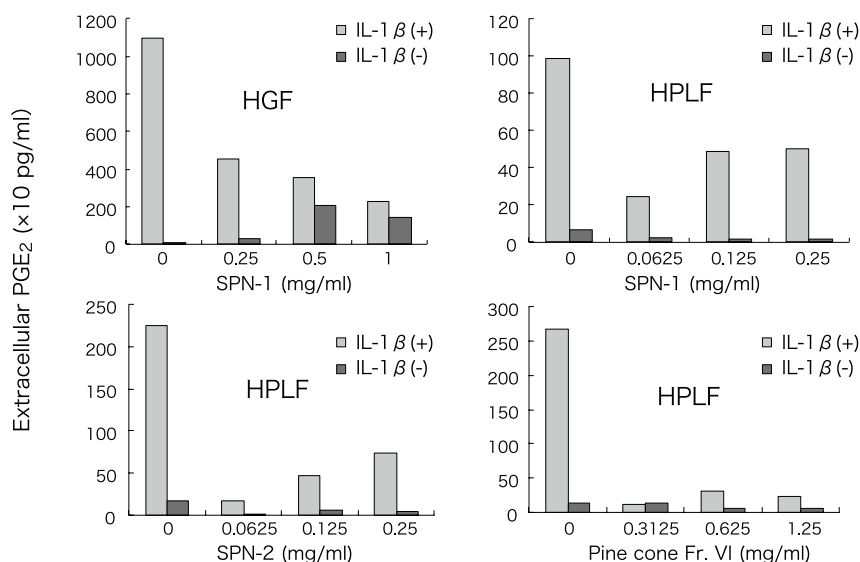


図5 SPN-1 および SPN-2 は, IL-1 β 刺激ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) およびヒト歯根膜線維芽細胞 (HPLF) による PGE₂ 産生を抑制する。灰色バーは IL-1 β (5 ng/ml) 処理, 黒いバーは IL-1 β (-)。HGF 細胞及び HPLF 細胞には, IL-1 β (5 ng/ml) の存在下あるいは非存在下で, 種々の濃度の試料を加えた。これらの細胞を 24 時間 96-well プレート中で培養後培養液中の PGE₂ 濃度を PGE₂ Express EIA Kit (Cayman Company) を用いて測定した。すなわち, サンプルあるいは PGE₂ 標準液 50 μ L に Prostaglandin E₂ Express AChE Tracer 50 μ L, Prostaglandin E₂ Express EIA Monoclonal Antibody 50 μ L を加え 60 分間反応させ, その後 Ellman's Reagent を 200 μ L を加え 60 ~ 90 分反応させ, 吸光度を 405nm の波長で測定した。検量線から, PGE₂ を定量した。

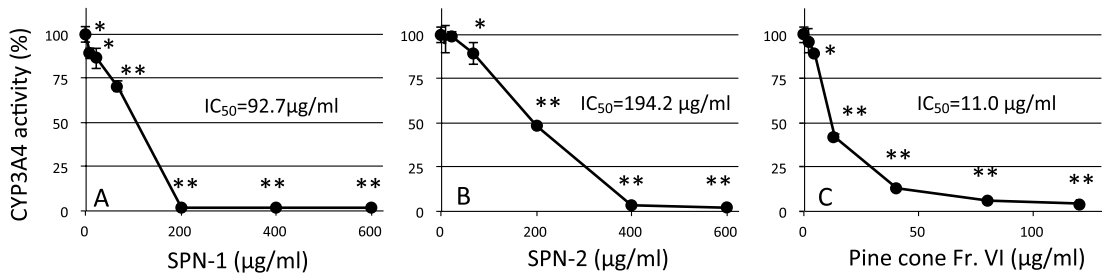


図6 SPN-1 および SPN-2 の CYP3A4 阻害活性。各値は、平均値±S.D. (n=3) を示す。* $p<0.05$ vs. control (0%)

おわりに

五葉松の実の殻のアルカリ抽出液 (SPN-1 及び SPN-2) は、卓越した抗 HIV 活性を示すことが判明した。SPN-1 および SPN-2 の抗 HIV 活性 (SI=23, 74) は、他の植物由来のリグニン配糖体画分 (SI=7 ~ 311) とほぼ同等であり、ルテオリン配糖体 (SI=2 ~ 7), トリシン (SI=24), 置換基導入グルカン (SI<1), タンニン類 (SI=1-11), フラボノイド類 (SI<1), 没食子酸 (SI<1), (-)-epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG) (SI<1), クルクミン (SI<1), クロロフィリン (SI=5), 漢方製剤 (SI<1) およびその構成植物抽出液 (SI=1.3) よりも高い^{2, 12)}。アルカリ抽出は、効率良く抗 HIV 物質を抽出できるものである^{13, 14)}。SPN-1 および SPN-2 は、炎症を起こした歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞が産生する PGE₂ の産生を強く抑制した。また、ミエロペルオキシダーゼ陽性細胞におけるヨード化を促進するので、抗菌活性も期

待できる。これらの結果を総合して考えると、SPN-1 および PSN-2 は、口内炎や扁平苔癬などのウイルスあるいは細菌性の疾患に有効である可能性が考えられる。実際に、我々は、松かさリグニン配糖体-ビタミン C の錠剤は、ヘルペス感染患者の症状を緩和すること¹⁵⁾、クマ笹アルカリ抽出液の長期摂取により、扁平苔癬異形成症の症状が緩和し、口腔内のレース状や網目状の白斑の範囲が狭くなり、また、唾液中の IL-6 および IL-8 の量も初期値の 1/3 以下に減少することを報告している¹⁶⁾。

本研究により、SPN-1 と SPN-2 は CYP3A4 阻害活性が比較的強いことが判明した。これは、CYP3A4 で代謝される併用薬の作用が増強される可能性を示唆する。従って、CYP3A4 で代謝される抗がん剤や抗菌薬などの作用を増強できる可能性については検討する必要があると思われる。

参考文献

1. Sakagami H, Ikeda M, Unten S, Takeda K, Murayama J, Hamada A, Kimura K, Komatsu N and Konno K: Antitumor activity of polysaccharide fractions from pine cone extract of *Pinus parviflora* Sieb. et Zucc. *Anticancer Res* 7: 1153-1160, 1987.
2. Sakagami H, Kushida T, Oizumi T, Nakashima H and Makino T: Distribution of lignin-carbohydrate complex in plant kingdom and its functionality as alternative medicine. *Pharmacology & Therapeutics* 128: 91-105, 2010.
3. Kushida T, Makino T, Tomomura M, Tomomura A and Sakagami H: Enhancement of dectin-2 gene expression by lignin-carbohydrate complex from *Lendinus edodes* extract (LEM) in mouse macrophage-like cell line. *Anticancer Res* 31: 1241-1248, 2011.
4. Harada H, Sakagami H, Konno K, Sato T, Osawa N, Fujimaki M and Komatsu N: Induction of antimicrobial activity by antitumor substances from pine cone extract of *Pinus parviflora* Sieb. et Zucc. *Anticancer Res* 8: 581-588, 1988.

5. Sakagami H, Yoshihara M, Fujimaki M, Wada C, Komatsu N, Nakashima H, Murakami T and Yamamoto N: Effect of pine seed shell extract on microbial and viral infection. *In Vivo* **6**: 13-16, 1992.
6. Fukuchi K, Sakagami H, Ikeda M, Kawazoe Y, Oh-hara T, Konno K, Ichikawa S, Hata N, Kondo H and Nonoyama M: Inhibition of herpes simplex virus infection by pine cone antitumor substances. *Anticancer Res* **9**: 313-318, 1989.
7. Mukoyama A, Ushijima H, Unten S, Nishimura S, Yoshihara M and Sakagami H: Effect of pine seed shell extract on rotavirus and enterovirus infections. *Letters in Appl Microbiol* **13**: 109-111, 1991.
8. Unten S, Sakagami H and Konno K: Stimulation of granulocytic cell iodination by pine cone antitumor substances. *J Leuk Biol* **45**: 168-175, 1989.
9. Sakagami H, Kashimata M, Toguchi M, Satoh K, Odanaka Y, Ida Y, Premanathan M, Arakaki R, Kathiresan K, Nakashima H, Komatsu N, Fujimaki M and Yoshihara M: Radical modulation activity of lignins from a mangrove plant, *Ceriops decandra* (Griff.) Ding Hou. *In Vivo* **12**: 327-332, 1998.
10. Ono M, Kanto K, Ueki J, Shimada A, Wakabayashi H, Matsuta T, Sakagami H, Kumada H, Hamada N, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Quest for anti-inflammatory substances using IL-1 β -stimulated gingival fibroblasts. *In Vivo* **25**(5): 763-768, 2011.
11. Sakagami H, Iwamoto S, Matsuta T, Satoh K, Shimada C, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Morita Y, Ohkubo A, Tsuda T, Sunaga K, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Comparative study of biological activity of three commercial products of bamboo leaf extract. *In Vivo* **26**: 259-264, 2012.
12. Kato T, Horie N, Matsuta T, Umemura N, Shimoyama T, Kaneko T, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Kusama K and Sakagami H: Anti-UV/HIV activity of Kampo medicines and constituent plant extracts. *In Vivo* **26** (6): 1007-1013, 2012.
13. Sakagami H, Ohkoshi E, Amano S, Satoh K, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Sunaga K, Otsuki T, Ikeda H and Fukuda T: Efficient utilization of plant resources by alkaline extraction. *Altern Integr Med* **2**, 2013 ISSN:2327-5162, 2013.
14. Ohno H, Miyoshi S, Araho D, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Tsuda T, Sunaga K, Amano S, Ohkoshi E, Sakagami H, Satoh K and Yamamoto M: Efficient utilization of licorice root by alkaline extraction. *In Vivo* **28**:785-794, 2014.
15. López BSG, Yamamoto M, Utsumi K, Aratsu C and Sakagami H: Clinical pilot study of lignin-ascorbic acid combination treatment of herpes simplex virus. *In Vivo* **23**: 1011-1016, 2009.
16. Matsuta T, Sakagami H, Tanaka S, Machino M, Tomomura M, Tomomura A, Yasui T, Itoh K, Sugiura T, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Pilot clinical study of *Sasa senanensis* Rehder leaf extract treatment on lichenoid dysplasia. *In Vivo* **26** (6): 957-962, 2012.

新規抗ストレス機能性食品素材

「酵素処理アスパラガス熱水抽出物 “ETAS”」のご紹介

前田 哲宏 (MAEDA Takahiro) 高成 準 (TAKANARI Jun) 後藤 一法 (GOTO Kazunori)
佐藤 敦哉 (SATO Atsuya) 三浦 健人 (MIURA Takehito)

株式会社アミノアップ化学

Key Words：アスパラガス 熱ショックタンパク質 70 (HSP70) 抗ストレス 睡眠改善 ヘルシー Do

はじめに

2014 年はアベノミクス効果により国内経済に若干の上向き傾向がみられ、一部大企業では昇給やボーナスの上昇といった景気の良い話題も見受けられた。しかし、一方では人口の減少に歯止めはかからず、また 65 歳以上の高齢者が人口の 4 分の 1 を占めるといういびつな世代構造、いわゆる「超高齢化社会」は改善の見通しが一向に立たず、経済・産業を支える労働人口一人当たりの責任は非常に大きくなってきているのが現状である。それに加え、増税や光熱費の上昇に伴う経済負担はますます増え、労働者にとってはストレスのたまる毎日である。ストレスはうつ病および自殺の大きな要因であり、そこに至らなくとも、食欲不振、不眠、めまい、冷や汗などの身体的症状や人間不信、情緒不安定、イライラ感等の精神的症状といったいわゆる自律神経失調症に繋がる元凶である。これらの症状は、少ない労働人口をさらに減少させ、結果、労働者の負担が更に増えるという負のスパイラルを生んでしまう。この問題は、特に先進国において深刻であり改善すべき大きな課題の一つである。アスパラガス茎熱水抽出物 (ETAS) はその課題解決を目指して新たに開発された抗ストレス効果を示す機能性食品素材である。本報では、その開発までの道のり、製法および現在までに明らかにした機能性につ

いて紹介する。

1. ETAS の開発経緯

抗ストレス素材の開発にあたって、まずは何を指標に探索をすべきか定めなければならなかった。その中で、アルコールや紫外線、熱など様々な外来ストレスによって発現が促される生体分子である熱ショックタンパク質 (HSP) 70 に着目をした。この分子はそれらのストレスからの細胞保護や恒常性維持に重要な役割を果たしている分子シャペロンであるため^{1,4)}、その発現誘導物質を医薬品や化粧品に应用しようという研究が行われており、シャクヤクに含まれるペオニフロリン⁵⁾や、胃炎・胃潰瘍治療薬として既に上市されているゲラニルゲラニルアセトン (商品名セルベックス、エーザイ (株)) が HSP70 発現誘導物質として知られている。また、興味深いアプローチとして、誘導剤の使用ではなく長風呂や遠赤外線照射によって適度に HSP70 を発現させることで、免疫力やストレス耐性を向上させるといった試みもなされている^{6,7)}。そこで我々は、まずはこの HSP70 発現を増強させる素材を探索し、その物質が抗ストレス素材となり得るのか否かを動物実験、ヒト介入試験により明らかにしていくこととした。

HSP70 発現増強剤探索に供する候補素材というと、弊社が北海道に根差した会社である

ことから道産農作物を中心に選択し、中でも選果・出荷時に廃棄されてしまう未利用資源に焦点を絞ってスクリーニングを行った。その結果、北海道を代表する農産物であるアスパラガスを熱水抽出したエキスを HSP70 の発現を促す効果があることが明らかになった。アスパラガスは農家から出荷される際に長さを揃えるため根元が切除されてきた。その量は弊社がある札幌近郊だけでも数十トンにおよび、農家を悩ませてきた問題でもあった。そのような背景から、我々は本素材の工業スケールでの製造に必要な量の確保が見込め、また未利用資源の有効利用にもつながると考え、このアスパラガス基部を使用した商品を開発することとした。

2. 製造方法および有効成分

ETAS の製造工程は非常にシンプルである。原料であるアスパラガス基部を裁断機で裁断し、タンクの中で熱水抽出をする。自然冷却

する過程で植物細胞壁分解酵素であるセルラーゼ、バクチナーゼを添加して残渣を分解した後、再加熱により酵素を失活させる。その後、固形分を除去し滅菌の過程を経て、スプレードライによって粉末化させ完成である。ETAS の HSP70 mRNA およびタンパク質発現誘導活性評価の結果を図 1 に示した。実験は HeLa 細胞を使用して行い、mRNA 評価は細胞に ETAS を添加して培養した後、mRNA 抽出、cDNA 合成の過程を経てリアルタイム PCR によって評価をし、タンパク質の評価は細胞をホモジナイズした後に ELISA キットを使用して実施した。その結果、ETAS は濃度依存的に mRNA、タンパク質両分子とも増加させることが示された⁸⁾。この ETAS の活性成分について研究を進めると、2つの化合物、5-hydroxymethyl-furfural (HMF, 図 2 化合物 1) ならびに新規化合物“Asfural” (図 2 化合物 2) に HSP70 誘導活性があることが判明した (図 3)⁹⁾。HMF, Asfural は共に原

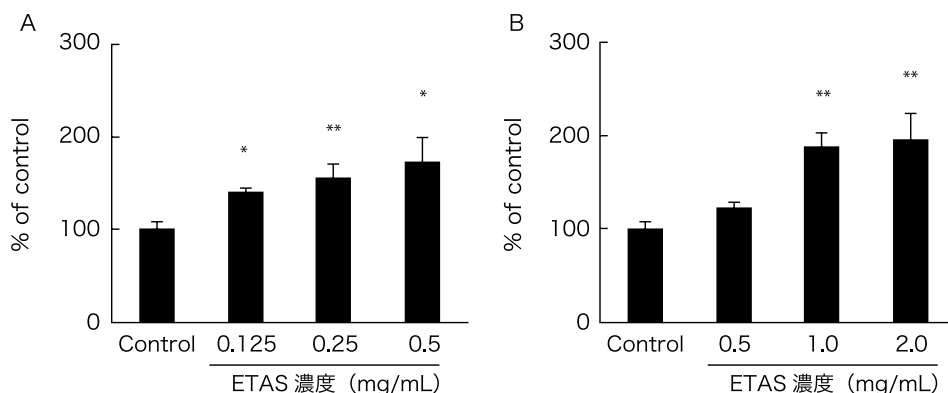


図 1 HeLa 細胞へ ETAS を添加した際の HSP70 発現誘導効果。A:Real-time PCR による mRNA 発現解析。B:ELISA 法によるタンパク質発現解析。いずれも無添加時 (Control) の発現レベルを 100% とし、それに対する各濃度添加時の上昇率 (%) で示してある。(* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. control)

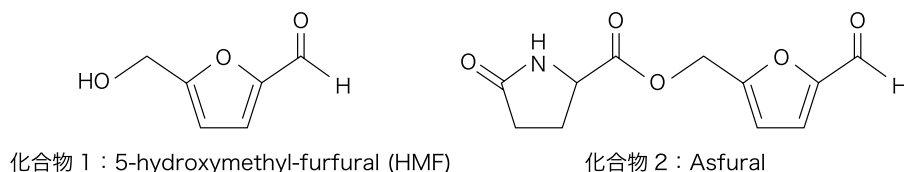


図 2 5-Hydroxymethyl-furfural (HMF) および新規化合物“Asfural”の構造。

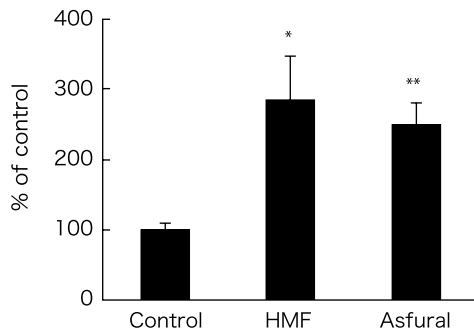


図3 HeLa細胞へHMFおよびAsfuralを添加した際のHSP70 mRNA誘導活性の評価。化合物の添加濃度はいずれも0.5 mg/mLであり、いずれも無処理（Control）の発現レベルを100%とし、それに対する各化合物添加時の上昇率（%）で示してある。（* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. control）

料のアスパラガスにもわずかに含まれているが、ETAS製造時の酵素処理、加熱という過程で大きく増加することが分かっている。よってこの二つの化合物がETASに含まれる特徴的なHSP70誘導活性化合物の一つであることが判明した。しかし、その活性強度およびETAS中含有量から推察すると両化合物以外にも活性を示す分子があると思われるため、その探索は現在も続けられている。

3. 安全性

ETAS開発に当たり、第一に考えた点として残留農薬の問題があった。ETASの原料であるアスパラガスの基部は数多くの農家から購入しているものであり、使用している農薬の管理は我々ではできない。よって、ETAS製造後に残留農薬を調査した。その結果、農林水産省のポ

ジティブリストに記載されている農薬についてはすべて未検出であった。

また、急性毒性、亜慢性毒性、遺伝毒性についてもGLP準拠の試験により調査を行ったがいずれも毒性がないことが示され、ヒト介入試験においても摂取による悪影響は全くなかったことから、ETASは安全な食品であることが明らかになった（表1）¹⁰⁾。

4. *In vivo*での機能性評価～断眠モデルマウスによる抗ストレス効果の測定⁸⁾

ETASの抗ストレス効果を示すために、ストレス負荷モデルとして断眠モデルマウスを使用した試験を行った。このモデルはマウスの脚部を水浸させることで眠れないようにしたものであり（眠ろうとすると顔が水につくので起きてしまう）、強いストレスがかかるモデルである。

Slc: ddYマウスをnormal群（断眠なし、ETASなし）、control群（断眠あり、ETASなし）、LD-ETAS群（断眠あり、ETAS 200 mg/kg 体重/day 投与）、HD-ETAS群（断眠あり、ETAS 1000 mg/kg 体重/day 投与）の4群に分け、まずは7日間ETASを連日投与した後に、7日目から3日間に渡り1日12時間（8:00～20:00）断眠ストレスを付加した。最終日には臓器（胃、肝臓、腎臓）および血液を得るために解剖を行い、臓器からはタンパク質を抽出しELISA法によってHSP70タンパク質発現解析に供し、血液は血清を採取しストレスマーカーの測定に供した。

その結果、まず所見においてはcontrol群マ

表1 ETASで実施された安全性試験

非臨床試験	
ラット単回経口投与毒性試験（GLP）	異常なし（LD ₅₀ >2000 mg/kg 体重）
ラット90日亜慢性経口投与毒性試験（GLP）	異常なし（LD ₅₀ >2000 mg/kg 体重）
微生物復帰突然変異試験（GLP）	陰性
マウス小核試験（GLP）	陰性
臨床試験	
ヒト1ヵ月摂取試験（1.5 g/日、非GLP）	異常なし

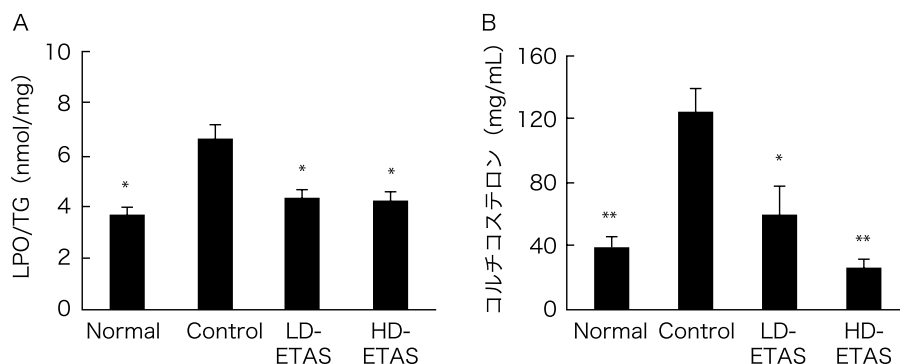


図4 マウス断眠モデルにおけるストレスマーカーの測定。A:血清中過酸化脂質比(過酸化脂質/中性脂肪(トリグリセリド)比)。B:血清中コルチコステロン。(* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. normal)

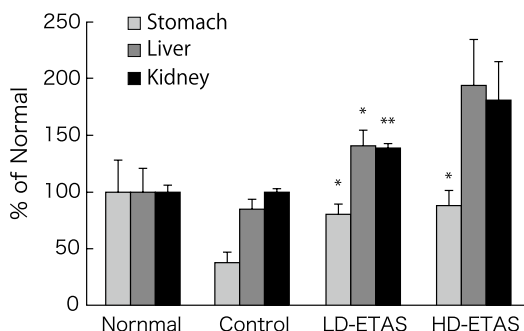


図5 マウス断眠モデルにおける臓器中 HSP70 タンパク質発現量の ELISA 法による測定。いずれも無処理群 (normal 群) の発現レベルを 100% とし、それに対する各処理群の上昇率 (%) で示してある。(* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. control)

ウスにおいて脱毛が多く観察された (8 匹中 6 匹) が, ETAS を投与した群では LD 群で 8 匹中 3 匹, HD 群では 8 匹中 1 匹と少なくなっていた (normal 群は 0 匹であった)。また, 代表的な血中ストレスマーカーであるコルチコステロンおよび血中過酸化脂質比 (LPO/TG) を測定すると, いずれも断眠ストレス負荷によりマーカーが増加し, ETAS を摂取した群ではそれらが有意に抑制されるという結果であった (図 4)。このことから, ETAS が抗ストレス作用を示すことが明らかになった。更に, 体内で HSP70 が発現しているか否かを調査するために, 肝臓, 胃, 腎臓中 HSP70 mRNA 発現解析を real-time PCR 法により実施したところ, 図

5 に示す通り, いずれの臓器においても ETAS を摂取することにより Control 群と比べ HSP70 の発現量が増加していた。

これらの結果から, HSP70 発現増強により抗ストレス効果が発揮されるメカニズムは未知であるが, ETAS がマウスにおいて HSP70 の発現を誘導し, 抗ストレス効果を示すことが証明された。

5. 健常人を対象とした臨床試験①～HSP70 発現ならびに自律神経調整作用の評価¹¹⁾

本製品の開発にあたり, 健常人を対象とした臨床試験を 2 種類実施した。一つ目がここで述べる HSP70 発現誘導効果および自律神経調整作用を明らかにするためのランダム化プラセボ対照試験である。20 名の被験者 (平均年齢 39.1 歳) を無作為にプラセボ群 (10 名) と ETAS 群 (10 名) に割り付け, プラセボ群にはデキストリン入りカプセル (250 mg/粒) を, ETAS 群には ETAS とデキストリンの混合物入りカプセル (ETAS 50 mg + デキストリン 200 mg/粒) をそれぞれ 3 カプセルずつ毎夕食後の同時刻に 1 週間摂取してもらい, ベースライン (摂取前) と 7 日目 (摂取後) に全被験者の血中 HSP70 mRNA 発現レベルを real-time PCR 法により, 自律神経状態を医療機器である加速度脈波検査システム (パルスアナライザープラス

TAS9, 株式会社 YKC 製, 東京, 医療機器製造販売届出番号: 13B3X00442I00001) により, それぞれ評価した。

図 6 に HSP70 mRNA 発現解析の結果を示した。両群ともにベースラインと比較し HSP70 発現は亢進しており, ETAS 群は統計学的有意差には至らなかったものの, プラセボ群と比較してもより高い傾向が見られた ($p=0.098$)。

自律神経状態は TAS9 のデータを基に 6 項目 (トータルパワー, 自律神経バランス, SDNN, 肉体的ストレス, 精神的ストレス, 総合評価) に分類し評価をした。その摂取前後の測定値の

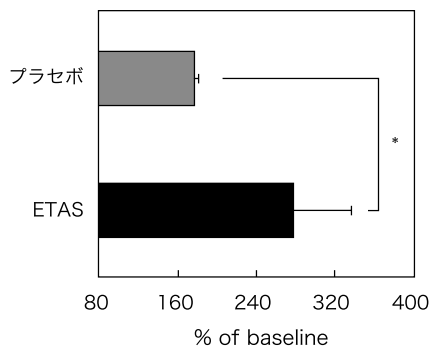


図 6 被験者の白血球中 HSP70 mRNA 発現量を real-time PCR 法により評価。両群の摂取前 (baseline) の値を 100% とし, 摂取後の上昇率 (%) で示してある。(* $p=0.098$)

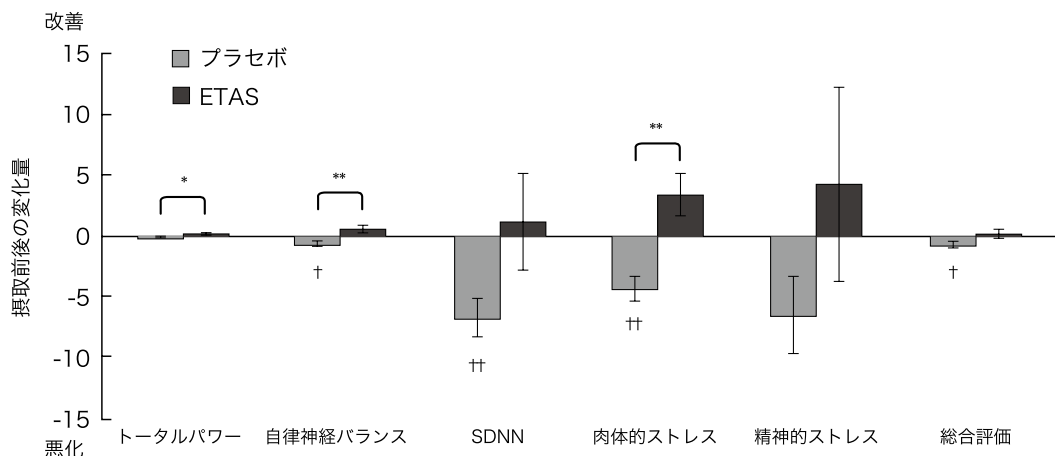


図 7 加速度脈波検査システム (TAS9) による自律神経バランスおよび自律神経活動度の評価。各群における被験食摂取前後の各項目の変化量で示している。(* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. プラセボ, † $p<0.05$, †† $p<0.01$ vs. 摂取前)

差を図 7 のグラフに示した。プラセボ群では自律神経バランス, SDNN, 肉体的ストレス, 総合評価の項目がベースラインと比べ有意に減少 (悪化) していた一方, ETAS 群ではすべての項目で改善が見られ, 中でもトータルパワー ($p<0.05$), 自律神経バランス ($p<0.01$), 肉体的ストレス ($p<0.01$) においてプラセボ群と比較し有意な差が認められた。

この結果により, ETAS 摂取により HSP70 がヒトにおいても誘導され, また自律神経調整作用も示すことが明らかになった。これらの変化が ETAS の抗ストレス効果に結び付いているのではないかと考えられる。

6. 健常人を対象とした臨床試験②～睡眠改善作用の評価¹¹⁾

ストレスが最も直接的に結びつく疾患の一つが睡眠障害であると言える。社内でのモニター試験においても, ETAS を摂取することにより寝付き, 寝起きがよくなったというアンケート結果もあったこともあり, ETAS の睡眠改善効果を二重盲検プラセボ対照クロスオーバーで実施することとした。

睡眠に問題を抱えている健常男性 18 人 (平均年齢 38.8 歳) を被験者とし, グループ 1, グ

グループ2にそれぞれ無作為に9名ずつに割り付けた。グループ1は最初にプラセボカプセル（デキストリン 250 mg 入り）を、グループ2はETAS カプセル（ETAS 50 mg + デキストリン 200 mg 入り）をそれぞれ1日3粒、毎夕食後に7日間にわたり摂取してもらった。2週間のwashout期間の後、グループ1、グループ2の被験食を入れ替えて同様のスケジュールで摂取してもらった。評価項目としては、各摂取期間前後での血中および唾液中のストレス指標（コルチゾール、クロモグラニン A）による抗

ストレス効果の評価、睡眠計（アクチグラフィ）、OSA 睡眠調査票 MA 版（OSA-MA）¹²⁾、アテネ不眠尺度（AIS）¹³⁾、視覚的評価スケール（VAS）による睡眠および体調の評価を行った。

まず、血清および唾液中ストレスマーカー量の結果を図8に示した。血清中ならびに唾液中コルチゾール（CORT）はETAS群、プラセボ群ともに摂取前と比較し増加していたが、プラセボ群では有意に増加していたのに対しETAS群では有意な差は見られなかった。一方、唾液中クロモグラニン A（CgA）は両群で減少

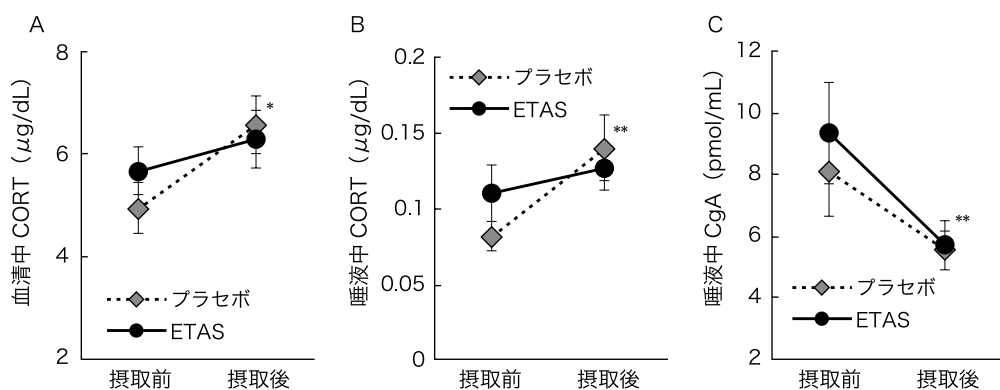


図8 被験者のストレスマーカーのELISA法による測定。A：血清中コルチゾール（CORT）。B：唾液中CORT。C：唾液中クロモグラニン A。（* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. 摂取前）

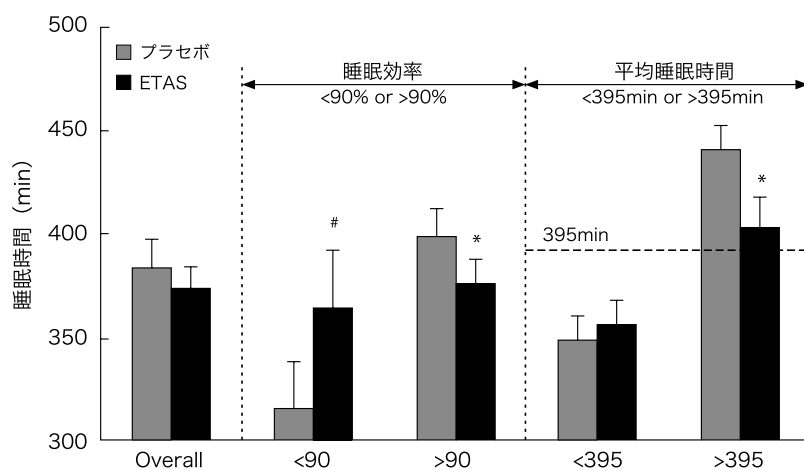


図9 アクチグラフィによる睡眠時間の評価。Overall は全被験者の平均睡眠時間を示している。睡眠効率 は総睡眠時間当たりの実睡眠時間の割合であり、90% 以上または以下の被験者に分類して平均睡眠時間を算出している。平均睡眠時間は大阪市立大学医学部付属病院のデータを参考に睡眠時間 395 分 / 日以上または以下の被験者に分類して平均睡眠時間を算出している。（# $p=0.093$, * $p<0.05$ vs. プラセボ）

していたものの、その減少量は摂取前後比較において ETAS 群が有意な減少を示した。これらの結果は ETAS が抗ストレス作用を有することを示している。

次に、アクチグラフィによる睡眠時間測定の結果を図 9 に示した。その結果、全被験者における平均睡眠時間は ETAS 摂取有無によって変化しなかった。ところが非常に興味深いことに、被験者を「睡眠時間が平均睡眠時間（395 min、参考：大阪市立大学医学部付属病院のデータ）より長いまたは短い人」に分類して再評価をすると、ETAS 摂取群では平均睡眠時間より長い人の睡眠時間を有意に短縮されていることが分かった。更に、「睡眠効率（総睡眠時間当たりの実睡眠時間の割合）が 90% 以上または以下の人」に分類して再評価をすると ETAS は睡眠効率 90% 以上の人の睡眠時間を有意に短縮化し、90% 以下の人の睡眠時間を延長させる傾向を示した。この結果は、ETAS が睡眠の質が悪い人（ノンレム睡眠時間が短い人）に対する睡眠改善効果を有していることを示唆している。

主観的評価である AIS、OSA-MA、VAS の結果、AIS では“予定の起床時間よりも早く目覚める（いわゆる早朝覚醒）”という項目が ETAS 摂取によりプラセボ摂取と比較し有意に改善した ($p<0.05$)。OSA-MA スコアでは“悪夢を見る頻度”が ETAS 摂取により有意に少なくなり ($p<0.05$)、VAS においては“食欲”の項目について ETAS 摂取群で有意な改善がみられた ($p<0.05$)。

これらヒト介入試験の結果、ETAS は抗ストレス作用を示し睡眠の質を改善することが明らかになった。

おわりに

ETAS は抗ストレス作用を目的として開発をした素材であり、その意図した通り、動物・ヒトにおいて HSP70 発現増強作用、ストレス低減効果ならびに自律神経調整効果を有することが示された。そして、それら作用がもたらす機

能の一つとして睡眠の質改善という効能も明らかになった。加えて、杏林大学のグループは脳機能に関する研究も進めており、ETAS が神経細胞をアミロイド β 毒性から保護し、老化促進マウスにおいて認知障害を防ぐという効果も有していることを明らかにした^{12,13)}。今後は、これらの現象をもたらし ETAS の作用メカニズムに関するデータの蓄積、活性物質の探索を進め、まずは抗ストレス素材としての ETAS の有用性・信頼性をより高めていきたいと考えている。

さて、本報でご紹介した ETAS は、記載したような安全性・機能性が認められ、「北海道食品機能性表示制度（通称：ヘルシー Do）」の認定を受けた。この制度は、2013 年に「北海道フード・コンプレックス国際戦略総合特区」における国との協議を経て、北海道庁主導でスタートした全国で初めての食品機能性表示制度である。北海道内の会社が製造した機能性素材を含有している北海道内企業（或いは工場）製造販売元の加工食品であれば、ヘルシー Do 認定マーク（図 10）とともに「健康でいられる体づくりに関する科学的な研究がなされていることを北海道庁が認めた」という表示ができるというものである。最大の特徴は、認定に際し最終製品の機能性が求められるのではなく、そこに含まれる素材の機能性が求められる点である。最終製品に含まれる素材について健康人を対象とした臨床試験により機能性を評価し、その結果



図 10 北海道食品機能性表示制度（通称：ヘルシー Do）認定マーク。道庁より認定を受けた製品に揭示されるマークである。

を記載した論文が査読つきの論文誌に掲載されていれば、その素材を含む加工食品について認定を受けることができる。これにより、最終製品での機能性評価が必要な特定保健用食品（トクホ）や、素材の認定についてはシステムティックレビューが必要とされている2015年スタート予定の国主導の食品機能性表示制度と比較し、中小企業でも利用しやすい制度となっている。ヘルシーDoは未だ全国的な知名度は低

い制度ではあるが、とかく不審な目で見られがちな機能性食品が、消費者から高い信頼を得、安心して利用していただけるようにするためにヘルシーDo認定を受けた製品を数多く世に送り出していくのが我々の大きな使命の一つではないかと考えている。読者の皆様もヘルシーDoマークがついた商品を見つけたら、是非とも手に取っていただけると幸甚である。

参考文献

1. Chang XR, Peng L, Yi SX, *et al.*: Association of high expression in rat gastric mucosal heat shock protein 70 induced by moxibustion pretreatment with protection against stress injury. *World J. Gastroenterology*. **13**: 4355-4359, 2007.
2. Senf SM, Dodd SL, McClung JM, *et al.*: Hsp70 overexpression inhibits NF- κ B and Foxo3a transcriptional activities and prevents skeletal muscle atrophy. *FASEB J*. **22**: 3836-3845, 2008.
3. Hirata I, Naito Y, Handa O, *et al.*: Heat-shock protein 70-overexpressing gastric epithelial cells are resistant to indomethacin-induced apoptosis. *Digestion* **79**: 243-250, 2009.
4. Nishida T, Ohata S, Kusumoto C, *et al.*: Zinc supplementation with polaprezinc protects mouse hepatocytes against acetaminophen-induced toxicity via induction of heat shock protein 70. *J. ClinBiochem. Nutr.* **46**: 43-51, 2010.
5. Yan Dai, Saito K, Ohmi Y, *et al.*: Paeoniflorin, a novel heat shock protein-inducing compound. *Cell Stress Chaperones* **9**: 378-389, 2004.
6. Ito Y, Tazawa K, Wada S, *et al.*: Induction of hp70 in lymphocytes by whole body far-infrared hyperthermia. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* **21**: 209-220, 2005.
7. Tazawa K, Okano S, Yatsuzuka M, *et al.*: Evaluation of heat shock protein 70 induced in spa therapy with a simple thermal: preliminary experience. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* **21**: 21-32, 2005.
8. Ito T, Maeda T, Goto K, *et al.*: Enzyme-treated asparagus extract promotes expression of heat shock protein and exerts antistress effects. *J. Food Sci.* **79**: 413-419, 2014.
9. Ito T, Sato A, Ono T, *et al.*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation of a 5-hydroxymethyl-2-furfural derivative, asfural, from enzyme-treated asparagus extract. *J. Agric. Food Chem.* **61**: 9155-9159, 2013.
10. Ito T, Maeda T, Sato A, *et al.*: Toxicological assesment of enzyme-treated asparagus extract in rat acute and subchronic oral toxicity studies and genotoxicity tests. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **68**: 240-249, 2014.
11. Ito T, Goto K, Takanri J, *et al.*: Effects of enzyme-treated asparagus extract on heat shock protein 70, stress indices, and sleep in healthy adult men. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **60**: 283-290, 2014.
12. Yamamoto Y, Tanaka H, Takase M, *et al.*: Standardization of revised version of OSA sleep inventory for middle age and aged. *Brain Sci. Ment. Disord.* **10**: 401-409, 1999.
13. Soldatos CR, Dikeos DG, Paparrigopoulos TJ: Athenes Insomnia Scale: validation of an instrument based on ICD-10 criteria. *J. Psychosomat. Res.* **48**: 555-560, 2000.
14. Ogasawara J, Ito T, Wakame K, *et al.*: ETAS, an enzyme-treated asparagus extract, attenuates amyloid β -induced cellular disorder in PC12 cells. *Nat. Prod. Commun.* **9**: 561-564, 2014.
15. Sakurai T, Ito T, Wakame K, *et al.*: Enzyme-treated Asparagus officinalis Extract shows neuroprotective effects and attenuates cognitive impairment in Senescence-accelerated mice. *Nat. Prod. Commun.* **9**: 101-106, 2014.

変形性膝関節症に対する機能性食品のエビデンス ーグルコサミン・コンドロイチン・CBP（乳清活性たんぱく） 含有サプリメントの有用性についてー

蒲原 聖可 (KAMOHARA Seika)^{1, 2} 影山 将克 (KAGEYAMA Masakatsu)²
内藤 健太郎 (NAITO Kentaro)²

¹ 健康科学大学

² 株式会社ディーエイチシー

Key Words：変形性膝関節症 グルコサミン コンドロイチン CBP 臨床試験 有効性評価

要旨

今日、機能性食品・サプリメントは、健康保持や疾病予防だけではなく、特定の病態の改善や疾病の治療を目的としても利用されるようになった。特に、高齢者では、関節機能の改善を訴求したサプリメントの利用率が高いことが知られている。

現在、政策目標として健康寿命の延伸が掲げられており、ロコモティブ症候群の対策も注目されている。サプリメントも応用が可能であり、変形性膝関節症に対するグルコサミンやコンドロイチンに関するエビデンスが構築されてきた。一方、グルコサミンなどに関するメタ解析の中には、研究デザインやアウトカム設定に問題がある RCT（ランダム化比較試験）によるバイアスが認められる場合がある。本稿では、変形性膝関節症に対して最も広く用いられる機能性食品成分のグルコサミンについて、現状のエビデンスを概説し、加えて、著者らによる複合サプリメント製品の関節痛軽減効果を報告する。

はじめに

変形性関節症（osteoarthritis, OA）は、高齢者の日常診療では高頻度に認められる。OA の好発部位は膝関節であり、変形性膝関節症（knee osteoarthritis, 膝 OA）と呼ばれる。膝 OA は、膝関節痛や可動域の制限、大腿四頭筋の筋力低下等を生じ、日常生活において歩行や立ち座り、階段昇降といった過渡動作、および関節運動を伴う動作の障害や能力低下が認められる。

膝 OA の罹患率は、加齢とともに増加する。厚生労働省では、国内での変形性膝関節症患者数について、自覚症状を有する者は約 1,000 万人、潜在的な患者（X 線診断による患者数）は約 3,000 万人と推定している¹⁾。

1. 変形性膝関節症とサプリメント

1-1. 変形性膝関節症に対するサプリメント利用

高齢者の間では、サプリメントが高率に利用されている^{2, 3)}。例えば、2012 年に発表された経済産業省の全国調査によると、機能性食品を「ほとんど毎日利用している」人の割合は、70 歳代では男女とも 40% を超えていた。ときどき利用する人を含めると、70 歳代では約 60% が機能性食品を用いているという。

同調査では、関節機能および感覚器（視覚機能）訴求の機能性食品の利用率が比較的高く、具体的には、関節系（グルコサミン、コンドロイチンなど）9.7% と報告されている²⁾。

1-2. 膝 OA の病態と評価方法

膝 OA では、関節痛や可動域制限を認める。

ただし、関節軟骨には神経も血管も存在しないため、膝 OA に伴う疼痛・関節痛は、軟骨障害に起因する痛みではない。膝 OA の疼痛の原因は、滑膜炎と軟骨下骨病変 (BML, Bone Marrow Lesion) の2つである。したがって、本来、膝 OA に伴う疼痛・関節痛の評価は、MRI による滑膜炎や BML の変化を測定する必要がある。

しかし、実際の臨床試験で用いられる膝 OA の評価方法は、X 線画像による関節間隙の測定、自己記載式膝 OA 機能評価表 (WOMAC ; Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index)、日本版変形性膝関節症患者機能評価法 (JKOM ; Japanese Knee Osteoarthritis Measure)、日本整形外科学会変形性膝関節症治療成績判定基準 (JOA score) などである。

1-3. 機能性食品成分の評価

膝 OA に対する治療のうち、浸襲の大きな介入方法では、前項で述べた評価方法が有用であるケースも存在する。一方、機能性食品成分のように、緩徐な作用を示す介入方法の評価方法としては、検出力不足になりやすい。層別解析による適切なデータ解析が求められる。

また、1 年以上にわたる長期試験の場合、膝関節に疼痛を有する被験者は脱落しやすく、サプリメントなどの緩徐な介入方法に関する臨床試験において、長期成績による評価を困難にする。

したがって、サプリメント・機能性食品による膝 OA への作用を適切に評価するのは容易ではない。

近年、サプリメント・機能性食品成分の有効性や安全性を検証した RCT (ランダム化比較試験) が増加し、メタ解析も多く報告されるようになった。サプリメントの適正使用に向けた科学的根拠が集積されつつある一方、RCT の研究デザインやメタ解析の方法が適切ではなく、検出力不足等が原因で偽陰性を示した研究結果も散見される。

そこで、膝 OA に対する機能性食品・サプリメントとした広く利用されているグルコサミン

について、最近の臨床研究 (RCT およびメタ解析) を選び、それらの研究デザイン、結果および考察の妥当性を検証した。その結果、代表的な RCT における試験デザインの問題点が見出された。また、これらの RCT を含むメタ解析では、グルコサミンの有効性を支持しないという誤った結論が導かれていた。

グルコサミンは、日本でも膝 OA 対策のサプリメント成分として広く利用されている一方、日本の整形外科関連学会では、サプリメント研究に関する知識不足・理解不足のため、一部のメタ解析を根拠とし、グルコサミンの有効性を否定するような意見が散見される。

2. グルコサミンのエビデンス

2-1. グルコサミンとは

グルコサミン (glucosamine) は、グルコースにアミノ基が結合したアミノ糖の 1 種であり、軟骨の構成成分であるムコ多糖類の構成成分となる。変形性関節症や関節炎に伴う症状に対する一定の効果が報告されており、コンドロイチン chondroitin と併用されることも多い⁴⁻⁶⁾。欧米や本邦で行われた数多くの臨床試験によって、関節炎や関節症に伴う疼痛を軽減し、関節の可動性を改善することが示されてきた。さらに、グルコサミンは、疼痛軽減効果の有無にかかわらず、人工膝関節置換術を減少するという研究も報告されている。

グルコサミンは、塩酸グルコサミンあるいは硫酸グルコサミンとしてサプリメント製品に用いられており、それぞれについてヒト体内動態が示されている (なお、本邦の食薬区分では、「グルコサミン塩酸塩」は「非医薬品」とされている)。

2-2. グルコサミンの適応

臨床試験では、変形性膝関節症等の関節障害の患者に対して、グルコサミン (硫酸塩あるいは塩酸塩) を経口投与することによる改善効果が示されてきた。20 報のランダム化比較試験を対象にしたコクラン・レビューでは、合計 2,570 名の被験者で、疼痛や Lequesne index に

においてグルコサミンの効果が示唆された。

グルコサミンの摂取により、変形性関節症や関節炎に伴う症状の予防や改善、関節軟骨の修復・保護作用が期待される。ただし、適正な用法用量での利用が前提である。一般には、1日あたり 1,500 mg ～ 1,800 mg での投与が多い。なお、有効性の判定に要する投与期間は、4 ～ 6 ヶ月間である。

2-3. グルコサミンは情報伝達物質

グルコサミンは、グリコサミノグリカン glycosaminoglycan と総称される分子の合成に必要な成分であり、各組織の柔軟性や弾力性に寄与している。グルコサミンの作用機序として、初期の研究では、構成成分としてのグルコサミンを経口摂取すると、消化管から吸収され、関節軟骨等の成分として直接的に利用されと考えられてきた。

しかし、現在では、グルコサミンは細胞内情報伝達機構に作用する分子であり、NFκB などの抑制を介した作用、IL-8 プロモーター領域のメチル化抑制作用などの機序が示されている（つまり、「軟骨成分を摂取することで、その成分が再構築や修復に用いられる」というメカニズムではない）。

2-4. メタ解析のバイアス

2010 年 9 月 16 日の BMJ (British Medical Journal) に、スイス・ベルン大学の Wandel らによるネットワーク・メタ解析が発表された。それによると、変形性膝関節症（膝 OA）あるいは変形性腰椎症（腰 OA）に対して、グルコサミン、コンドロイチン、グルコサミン+コンドロイチンの投与を行っても、関節の疼痛軽減や関節腔への作用は認められなかったという⁷⁾。

この BMJ のメタ解析は、Medline や Embase などのデータベースを用いて、2010 年 6 月までの臨床研究から、膝 OA あるいは腰 OA の 100 症例以上を対象とした RCT の 58 報を抽出し、12 報（10 試験）を解析している（この抽出の過程で、優れた介入試験が除かれている）。

解析された 10 報の内訳は、①グルコサミン偽薬対照 RCT が 6 報、②コンドロイチン偽薬対照 RCT が 3 報、③グルコサミン vs. コンドロイチン vs. グルコサミン/コンドロイチン併用 vs. 偽薬が 1 報である。これらのうち、グルコサミンの RCT では①の 6 報での被験者数は、100 名強であった（グルコサミン群；101 ～ 126 名、偽薬対照群；101 ～ 126 名）。これに対し、③の 1 報は、各群が 300 名を超えた被験者数であり、メタ解析において影響を与えている。BMJ のメタ解析では、疼痛軽減効果などは、グルコサミン favor 側の傾向にあるが、臨床的に有意差は示されていない。

2-5. GAIT1 試験とは

BMJ のメタ解析において、ネガティブなバイアスを与えたのは、2006 年に Clegg らにより NEJM (The New England Journal of Medicine) に報告された RCT である。この RCT は、GAIT (Glucosamine/chondroitin arthritis intervention trial) 1 として知られている⁸⁾。

GAIT1 は、(1) NIH の NCCAM（国立補完代替医療センター）のグラントで行われた研究、(2) NEJM に掲載、(3) 結論はネガティブデータ、であったことから、メディアで大きく報道された。

GAIT1 は、①偽薬対照 ($n=313$)、②グルコサミン塩酸 1,500mg ($n=317$)、③コンドロイチン硫酸 1,200mg ($n=318$)、④グルコサミン塩酸 1,500mg/コンドロイチン硫酸 1,200mg 併用 ($n=317$)、⑤ポジティブ対照のセレコキシブ (COX-2 阻害剤、セブレックス) ($n=318$) の 5 群を比較した RCT である。結果は、グルコサミン、コンドロイチン、両者の併用群、偽薬に関して有意差が認められなかったとされている。

論文抄録の結論のみ、あるいはメディア報道の見出しだけをみて、グルコサミンあるいはコンドロイチンに効果がない、との誤解が一人歩きしている。しかし、実は、GAIT1 は検証方法に問題があり、不適切な RCT である。

なお、層別解析によると、中等度から重症の患者群において、グルコサミン/コンドロイチン併用群は、アクティブ対照群のセレコキシブ (COX-2 阻害剤) 群よりも、関節痛/関節機能の指標において、改善を示した。

2-6. GAIT1 は RCT として失敗

GAIT1 が失敗した RCT であり、グルコサミンの有効性の検証ができていない主な理由は次の点にある。

一つめは、主アウトカムについて、偽薬群の改善率 (プライマリ反応) が高すぎることである (主アウトカムは、WOMAC 疼痛スコアが 20% 低下した被験者の割合)。

試験終了時である 24 週の時点での改善率は、①偽薬対照 60.1%、②グルコサミン 64.0%、③コンドロイチン 65.4%、④グルコサミン/コンドロイチン併用 66.6%、⑤セレコキシブ 70.1% であった。偽薬群に対してセレコキシブ群のみ有意差あり、という結果である。

GAIT1 において、偽薬群の改善率が高値になった理由として、プロトコールでは 80% の確率で実薬群になることが被験者に理解されていることが推察される。

偽薬群での主アウトカムの反応率が 60% を超えている RCT は、例えば、FDA では医薬品の審査に用いられない (試験開始 4 週の時点で、偽薬群での主アウトカムの反応率 (改善率) が 40 数 % に達している)。

二つめは、層別解析で、中等度から重症の患者群において、アクティブ対照群が、偽薬群と有意差がない点である。つまり、本来、最も効果を示すべき患者群 (症状を有する患者群) において、COX-2 阻害剤投与群は、偽薬群と有意差がなかったのである (一方、前述のように、中等度から重症の患者群では、グルコサミン/コンドロイチン併用群は、偽薬群に比べて、有意な改善効果を示した)。

2-7. GAIT2 の間違い

2008 年、関節疾患研究の専門誌に、GAIT1

のフォローアップ研究である GAIT2 が報告された⁹⁾。

GAIT2 では、GAIT1 の 2 年後の関節裂隙幅 (JSW ; Joint Space Width) の狭小化をアウトカムとしており、各群の値 (単位 mm) は、①偽薬対照 0.166、②グルコサミン 0.013、③コンドロイチン 0.107、④グルコサミン/コンドロイチン併用 0.194、⑤セレコキシブ 0.111 であった。GAIT2 には決定的な誤りがある。それは、JSW (関節裂隙幅) の X 線測定誤差が 0.16 mm に達しており、偽薬群の変化 (0.166 mm) と同程度となった点である。既報の臨床研究では、測定誤差は 0.09 mm 程度であり、GAIT2 でも、試験実施前にはそれと同程度を想定していたが、結果的には大きな測定誤差が生じた (これは、例えば、測定誤差が 60 kg の体重計を用いて、体重 60 kg の A 氏と体重 100 kg の B 氏の体重が同じ、といっているようなものである)。

GAIT2 は、適切な評価手法を用いていないため、公表する価値がないという一部の反対意見にもかかわらず、ネガティブデータ (グルコサミン投与群と偽薬群に有意差が認められなかった) として発表された。

2-8. EULAR ではレベル A

今後、グルコサミンの有効性に関するメタ解析では、GAIT1 や GAIT2 を対象とすることで、「グルコサミンには効果がない」といった誤った結論を出すことが推察される。

例えば、冒頭で取り上げた BMJ のネットワーク・メタ解析では、58 報の RCT を抽出したにもかかわらず、特定の RCT を除外し、結果的に GAIT1 を含む 10 報しか解析の対象としていない。

米国のように、医療に民間の競争原理を導入した社会では、医学医療のエビデンス構築の過程において、政治的な介入がなされることで、科学的公正さが失われることがある。

欧州では、関節疾患に対して、EULAR (European League Against Rheumatism) が、エビデンスの収集・構築・提供を行っている。変形性膝関節症に対して、グルコサミンおよびコ

ンドロイチンは、エビデンスレベル 1A、推奨度（A, B, C の 3 段階）は A である¹⁰⁾。

2-9. 人工膝関節置換術を減少

グルコサミンの有効性に関する評価指標として、WOMAC（関節疼痛、可動域）、関節裂隙などが用いられる。疼痛が軽減されれば、QOL が改善するので、VAS（Visual Analog Scale）による評価であっても、一定の臨床的意義は期待できるであろう。

一方、グルコサミンの長期投与は、疼痛軽減の有無とは無関係に、人工膝関節置換術を減少するという研究が、ベルギーのグループから報告されている。それによると、変形性膝関節症患者 340 名を対象に、グルコサミン硫酸塩あるいは偽薬を 1 年間以上投与し、その後 5 年間のフォローアップが行われた。試験の結果、投与被験者 340 名のうち 275 名（81%）が少なくとも 12 ヶ月間の投与（内訳：グルコサミン投与群 144 名、偽薬群 131 名）を受け、5 年間のフォローアップ中、人工膝関節置換術を受けた被験者の割合は、偽薬投与群：131 名中 19 名（14.5%）vs. グルコサミン投与群：144 名中 9 名（6.3%）（ $P=0.024$, $RR: 0.43$ 95%, $CI: 0.20-0.92$ ）であった。つまり、グルコサミン投与群は、偽薬群に比べて、人工膝関節置換術施行が 57% 減少した¹¹⁾。

2-10. 糖代謝に影響しない

グルコサミンに関連する有害事象として、糖代謝への影響が示唆される予備的な研究があることから、糖尿病患者ではグルコサミン摂取に注意するべき、という文献上の記載がみられる。しかし、最新のレビューでは、グルコサミンによる糖代謝への影響（インスリン感受性や耐糖能）を介した有害事象に関しては、研究デザイン等の限界から、臨床的意義の妥当性（臨床的な蓋然性）に疑問が残るとされた¹²⁾。

現時点では、グルコサミンの摂取は、健常者、糖尿病患者、耐糖能異常を有する糖尿病予備軍のいずれにおいても、空腹時血糖値、糖代謝、

インスリン感受性に有意な影響を与えることはない。

2-11. 膝 OA に対するサプリメント

変形性膝関節症（膝 OA）対策の機能性食品成分として、まず、グルコサミンが第一選択となる。次に、コンドロイチンも併用される成分である。その他、抗炎症作用を主な作用機序とした機能性成分として、ボスウェリア・セラータ（5-ロキシシン）やピクノジェノールの有効性も示されている⁴⁻⁶⁾。

3. 臨床研究アップデート

膝 OA に対するサプリメントの研究として、最近の報告を紹介する。

3-1. グルコサミン・コンドロイチンの関節裂隙狭小化抑制効果

2014 年にオーストラリアから報告された研究によると、2 年間のランダム化二重盲検偽薬対照試験として、45 歳から 75 歳の慢性膝痛を示す患者 605 名（JSN（関節裂隙狭小化）が認められるが、JSW 関節裂隙は 2 mm を超えて保たれている患者）を対象に、グルコサミン硫酸 1500 mg 投与群（ $n=152$ ）、コンドロイチン硫酸 800 mg（ $n=151$ ）、両者の併用群（ $n=151$ ）、偽薬対照群（ $n=151$ ）の 4 群について介入が行われ、JSN（mm）が 2 年間にわたり測定された結果、偽薬対照群に比べて、グルコサミンとコンドロイチンの併用投与群では、2 年間の関節裂隙狭小化（JSN）が有意に減少したという¹³⁾。

3-2. グルコサミン・コンドロイチンの関節軟骨構造保護作用

2013 年にカナダから報告された臨床研究によると、膝 OA 患者 600 名を対象に、OA に対する標準治療としての薬物療法（鎮痛薬 / NSAIDs）の併用の有無で 2 群に分けて、24 カ月間の介入による関節軟骨量の変化（MRI にて定量的に評価）、関節間隙（JSW）の変化が調べられた結果、まず、鎮痛薬 / NSAIDs の非

投与群では、グルコサミン・コンドロイチン投与によって、24ヶ月時点での軟骨容積の減少が有意に抑制された。次に、鎮痛薬/NSAIDs併用投与群では、グルコサミン・コンドロイチン投与によって、軟骨容積の減少が有意に抑制された¹⁴⁾。

3-3. コンドロイチン硫酸による膝 OA の症状改善効果

2013年にベルギーから報告された研究によると、多施設共同二重盲検ランダム化比較試験として、45歳以上の膝関節症患者男女353名を対象に、コンドロイチン硫酸1,200 mgを1日1回投与、1200 mgを400 mg × 3回として投与、偽薬投与の3群につて3ヶ月間の介入を行い、LI (Lequesne Index) スコアとVASによる評価の結果、偽薬投与群に比べて、コンドロイチン硫酸投与の2つの群では、いずれも有意な改善が認められた¹⁵⁾。

3-4. グルコサミン・コンドロイチン・CBP含有サプリメント

著者らは、グルコサミン・コンドロイチン・CBP（濃縮乳清活性たんぱく）などの機能性食品素材を含むサプリメント製品による関節痛軽減効果を見出した。具体的には、膝関節痛を訴える40歳以上の男女16名を対象に、サプリメント（DHC “らくらく”：グルコサミン塩酸塩1,200 mg、メチルスルフォニルメタン420 mg、コンドロイチン硫酸275 mg、II型コラーゲン50 mg、コラーゲンペプチド90 mg、オリーブエキース末12 mg、CBP（濃縮乳清活性たんぱく）6 mg）投与群（ $n=8$ ）と偽薬投与群（ $n=8$ ）の2群について6週間のランダム化二

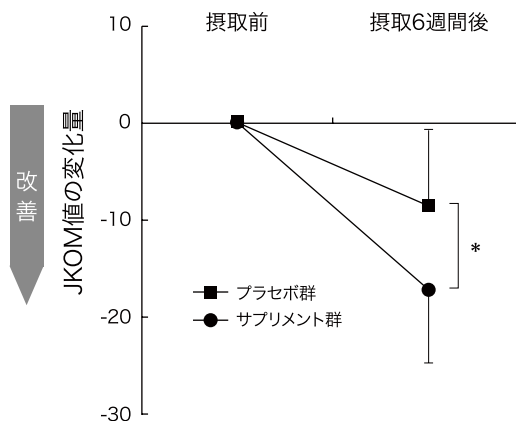


図1 DHC 複合サプリメント“らくらく”による関節痛改善効果

DHC 複合サプリメント“らくらく”の6週間投与によるJKOM値の変化を示す。偽薬投与群に比べて、サプリメント“らくらく”投与群では、JKOM値が有意に改善した。

重盲検偽薬対照試験を行った結果、偽薬群に比べてサプリメント投与群では「膝の痛みやこわばり」($p=0.008$)およびJKOM値($p=0.041$)にて有意な改善を認めた。また、血中IL-6値の有意な低下（改善）も見出された¹⁶⁾。

おわりに

変形性膝関節症の予防やリスク低減、症状の軽減のためには、食事療法や運動療法を基本とし、機能性食品・サプリメントの適正使用も有用である。疼痛の軽減などには医薬品を補完的に利用しつつ、安全性・有効性・経済性に優れたサプリメント・機能性食品も併用することで、ロコモティブ症候群対策となり、健康寿命延伸のための重要な選択肢の一つとして用いることができる⁴⁶⁾。

参考文献

- 厚生労働省：介護予防の推進に向けた運動器疾患対策について。平成20年7月。
- 経済産業省・中部経済産業局：機能性食品に関する消費者の意識調査報告書。2012年2月。
- 内閣府・消費者委員会：消費者の「健康食品」の利用に関する実態調査。2012年5月。
- 蒲原 聖可：EBMサプリメント事典。医学出版社、東京、2008。
- 蒲原 聖可：必携サプリメント・健康食品ハンドブック。新興医学出版社、東京、2009。

6. 蒲原 聖可：ヘルシーエイジングに役立つサプリメント・健康食品。医学と看護社，東京，2013。
7. Wandel S, Jüni P, Tendal B, *et al.*: Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *BMJ*. **341**:c4675, 2010.
8. Clegg DO, Reda DJ, *et al.*: Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med*. **354**:795-808, 2006.
9. Sawitzke AD, Shi H, Finco MF, *et al.*: The effect of glucosamine and/or chondroitin sulfate on the progression of knee osteoarthritis: a report from the glucosamine/chondroitin arthritis intervention trial. *Arthritis Rheum*. **58**: 3183-91, 2008.
10. Zhang W, Doherty M, Peat G, *et al.*: EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. **69**:483-9, 2010.
11. Bruyere O, Pavelka K, Rovati LC, *et al.*: Total joint replacement after glucosamine sulphate treatment in knee osteoarthritis: results of a mean 8-year observation of patients from two previous 3-year, randomised, placebo-controlled trials. *Osteoarthritis Cartilage*. **16**:254-60, 2008.
12. Simon RR, Marks V, Leeds AR, *et al.*: A comprehensive review of oral glucosamine use and effects on glucose metabolism in normal and diabetic individuals. *Diabetes Metab Res Rev*. **27**:14-27, 2011.
13. Fransen M, Agaliois M, Nairn L, *et al.*: Glucosamine and chondroitin for knee osteoarthritis: a double-blind randomised placebo-controlled clinical trial evaluating single and combination regimens. *Ann Rheum Dis*. Jan **6**, 2014.
14. Martel-Pelletier J, Roubille C, Abram F, *et al.*: First-line analysis of the effects of treatment on progression of structural changes in knee osteoarthritis over 24 months: data from the osteoarthritis initiative progression cohort. *Ann Rheum Dis*. Dec **13**, 2013.
15. Zegels B, Crozes P, Uebelhart D, *et al.*: Equivalence of a single dose (1200 mg) compared to a three-time a day dose (400 mg) of chondroitin 4&6 sulfate in patients with knee osteoarthritis. Results of a randomized double blind placebo controlled study. *Osteoarthritis Cartilage*. **21**:22-7, 2013.
16. 蒲原 聖可，影山 将克，内藤 健太郎，他：膝関節痛に対するグルコサミン・コンドロイチン・II型コラーゲン・CBP（濃縮乳清活性たんぱく）等含有機能性食品の作用。第41回日本関節病学会，2013。

タマネギ外皮の有効利用の可能性について

堀田 幸子 (HORITA Sachiko)¹ 小谷 明司 (KOTANI Akeshi)² 有水 育穂 (ARIMIZU Ikuho)³

¹ 備南ハイフーズ株式会社

² 技術士 / 水産部

³ 有限会社 備南食研

Key Words：タマネギ 外皮 機能性食品 ケルセチン ポリフェノール 廃棄物 有効利用

はじめに

タマネギはユリ科ネギ属の野菜で *Allium cepa* の学名が与えられている¹⁾。なお、最近の分類ではヒガンバナ科を新設しネギ亜科ネギ属に含めている²⁾。

タマネギの原産地は西南アジア³⁾、一説にはベルシャ⁴⁾と伝えられている。日本にはかなり遅く江戸時代に長崎経由で鑑賞植物して伝えられた。食材としての利用はその強烈な刺激臭のために抵抗が強かったようだが、明治4年(1871年)に札幌で西洋種のタマネギの栽培が本格的に始まり、明治政府の欧化政策に伴う西洋料理の普及につれて急速に認知が進んだ。現在では和食食材としても一般的になっている²⁾。

今日、タマネギは世界で2010年に7800万トンの生産が記録され⁵⁾、最も多量に消費される野菜のひとつである。我が国でも2013年には年間約110万トン生産され⁶⁾、蔬菜類では大根、キャベツに続いて3番目の生産量を誇る。輸入量は約34万トンであった⁷⁾。

タマネギは外皮の色彩に応じて黄色、赤、白の三つの栽培品種の系統がある⁸⁾。日本ではほとんどが黄色系であり、最近になってサラダ用として赤色系のものを見かけるようになった。この他に形状(球、扁平楕円体等)で系統を区別することもある⁹⁾。

タマネギには刺激的風味を発する揮発性含イ

オウ有機化合物¹⁾の他にも種々の機能性成分が含まれている。特にポリフェノール化合物に属するケルセチンについて、日本人は80%以上をタマネギから摂取していると言われている¹⁰⁾。

我々の試作で2014年3月に広島県福山市内で販売されていたM寸タマネギからの外皮の廃棄率は約2%、外皮の水分率は約88%であった。日本国内で消費されるタマネギは国産ものと輸入物の合計であると仮定し、我々の結果を外挿すると、加工・調理段階で約2.8万t、乾物重量換算で約3500tのタマネギ外皮が廃棄されていると推定される。

本稿では従来、食品由来廃棄物として未利用であったタマネギ外皮の成分、特にケルセチンとその誘導体をはじめとするポリフェノール化合物に着目して記述を進める。廃棄物として扱われているタマネギ外皮の有効利用に寄与できるとすれば幸甚である。

1. ケルセチンについて

1-1. 分布と存在形態

ケルセチンは植物界に広く分布するポリフェノール化合物で、遊離体の他に3-O-配糖体、4'-O-配糖体が知られている¹¹⁾。ケルセチンは黄色の、水に難溶性の物質でアルコールにわずかに溶解する¹²⁾。フェノール性水酸基を4個有しアルカリ水溶液には黄色を呈して溶解す

る(図1)¹²⁾。ケルセチンは他のポリフェノール化合物と同様に強い抗酸化活性を有する¹³⁾。抗酸化活性はケルセチンの多価金属イオンに対するキレート能¹⁴⁾とラジカル消去能¹⁵⁾に負うものと考えられている。

植物は一般に機能性成分の機能発現の調整、および備蓄のために配糖誘導体として細胞内に

蓄積し、必要に応じて酵素的に加水分解してアグリコンを遊離する調節機能を有する¹⁶⁾。糖残基が結合することにより水への溶解性が増し、野菜類を煮込む等の調理を加える場合にはヒトの利用効率が向上する可能性が考えられる。タマネギではケルセチンに比べてケルセチン配糖体が圧倒的に多く含まれている¹⁷⁾。

1-2. ケルセチンの機能性

ケルセチン配糖体にはラット、マウスで抗ウツ作用様の活性が見られとの報告¹⁸⁾、抗ウツ作用に関連する弱いMAO-A阻害活性が観察されたとの報告¹⁹⁾もあり注目される。ただし、現在のケルセチンとケルセチン配糖体のヒト、および動物の消化管での代謝・吸収の知見に照らせば、ケルセチン配糖体が体内に吸収される可能性は低そうである。すなわち、ケルセチン配糖体はいったん加水分解されてアグリコンであるケルセチンを遊離し、続いてグルクロン酸抱合されてから吸収され则认为られている(図2)^{20,21)}。配糖体の加水分解には消化管に存在する酵素の他、腸内細菌の関与も考えられる。

ケルセチンは合成エストロゲンとの化学構造の類似性が指摘され、エストロゲン様作用のあることが知られており²²⁾、子宮機能の維持²³⁾に向けてのケルセチン投与が提案されている。また、マウスでの破骨細胞の分化の抑制²⁴⁾、ラットでの骨形成マーカーを上昇させる作用²⁵⁾等の報告があり骨粗鬆症予防に寄与しうる可能性が指摘されている。

なお、ケルセチンの人体への吸収については単体配合剤形(錠剤、カプセル)で摂取するよりも食材中に希釈・分散されている方が有利であるとの説がある²⁶⁾。また、食事の工夫により血中ケルセチン濃度を上昇させることも提唱されている²⁷⁾。

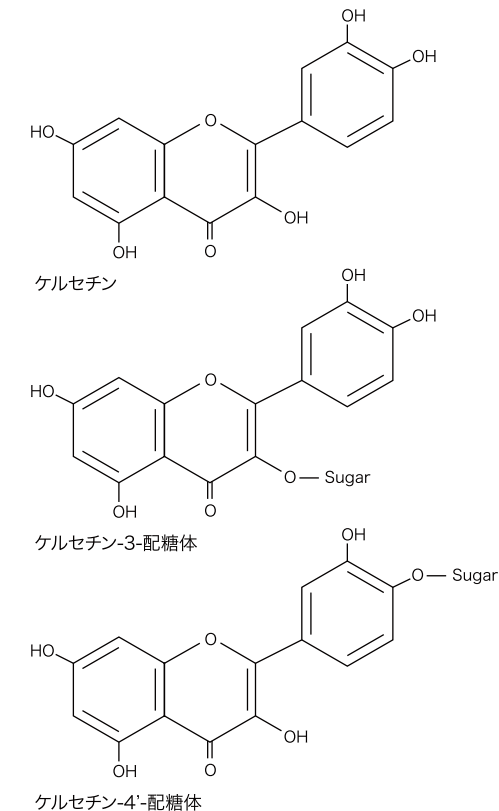
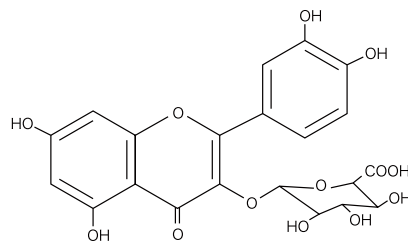


図1 ケルセチンとその配糖体

ケルセチン配糖体 → 消化管内での加水分解 → ケルセチン →

→ グルクロン酸抱合
(酵素反応による) →



ケルセチン-3-グルクロニド(体内吸収)

図2 ケルセチン配糖体の消化器官での加水分解と体内吸収

2. タマネギ外皮の機能性成分

2-1. タマネギ外皮の生物学的機能

タマネギは鱗茎と呼ばれる貯蔵組織であり、生存・繁殖のためのエネルギー、栄養成分、水分の貯留のための組織である。花を咲かせ種子を育むとともに、鱗茎を発達させて別途の生き残り戦略を準備する。

タマネギ鱗茎は常に土壌と接しているため土壌由来の細菌、カビ、線虫、昆虫等の侵襲から自身を保護する必要がある。また、乾燥や多雨の場合には水分の蒸発や湿度過多から身を護る必要もある。

以上のような生存に不利な要因から鱗茎を保護するために、前述のような揮発性有機化合物、ポリフェノール類、あるいはその前駆体の生合成と蓄積による化学的防御の他、鱗茎表皮細胞の最外部を被覆する外皮を物理的防御壁として構築していると理解され、外皮には鱗茎内部細胞とは異なる成分を含むことが予測される。

タマネギ外皮の概観上の特徴として、極めて薄いこと、乾燥していること、褐色を呈していることがあげられる。タマネギ鱗茎内部組織（細胞）の化学成分に関する文献は膨大であるが、外皮に関するものはまだ極めて少ない現状にある。

2-2. タマネギ外皮の特性

タマネギ外皮は薄く乾燥していることから内部に含まれている酵素活性は緩徐なものと推測される。しかし、外皮が形成される過程においては種々の化学物質を生合成していたことは間違いないだろう。また、鱗根内部の細胞とは異なる機能性成分の分布が推測される。さらに、外皮が極めて薄いことから空気中の酸素により酸化誘導体が生成・蓄積されることも予測される。

2-3. タマネギ外皮の機能成分の研究

前述のようにタマネギ外皮の

機能性成分に関する学術的研究は極めて少ない。筆者達が入手できた範囲の文献に基づいて以下、稿を進めたい。

タマネギ外皮は粉末、煎じ液の経口摂取により民間薬として利用されており、効能として血圧降下、血糖低下の作用が期待されていたようである²⁸⁾。外皮成分としてケルセチンの他にミリセチン、ケンファロールの存在が知られていたが²⁷⁾、瀬部等²⁵⁾は水抽出液の成分としてフロログシノール、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、2,4,6-トリヒドロキシ安息香酸メチル等のフェノール性化合物を同定している。

T. N. Ly 等²⁹⁾は国産の黄色タマネギ外皮のメタノール抽出物について機能性成分の分画と成分の化学構造の同定を行ない、タマネギ鱗茎内部の主要なフラボノイド類であるケルセチンとケルセチン配糖体の他に、複数のケルセチンの酸化誘導体を特定した。

プロトカテキュ酸（図3）は茶類やコーヒー等の嗜好性飲料に含まれる抗酸化物質として著名であるが、タマネギ外皮からも検出され、このものはケルセチンの酸化により生成したものと推定された²⁹⁾。さらに、ケルセチンが酸化して複雑な重合体が生成されていることが明らかにされた。これらの酸化誘導体が生化学的生成物であるのか、外皮が形成された後に酸化反応により生成したものであるのかは今後の研究に待たなければならない。

抽出に用いる溶媒、および温度等の操作条件により抽出される成分は当然に異なるであろうが、ケルセチン 0.63 mg/g、プロトカテキュ酸 0.86 mg/g²⁶⁾、同様にケルセチン 9.37 ± 0.46 mg/g、

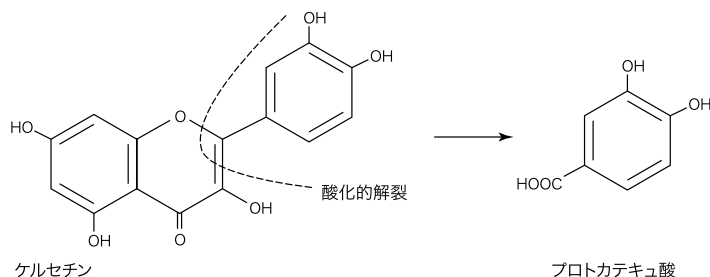


図3 プロトカテキュ酸の生成

プロトカテキュ酸 5.02 ± 0.24 mg/g (いずれもタマネギ外皮単位重量あたり)¹⁵⁾と報告されており、100 ~ 1000 ppm オーダー濃度のケルセチンとプロトカテキュ酸が含まれていることが知られる。

M. Furukawa 等²⁹⁾はタマネギ外皮から分離されたケルセチン、ケルセチン配糖体 (4'-O-グルコシド)、ケルセチン2量体の細胞膜モデル系への作用とマウスのもエローマ細胞に対する増殖抑制作用を試験管レベルで調べた。結果として2量体に細胞増殖抑制作用が認められ、それより劣るケルセチンにも増殖抑制活性が認められた。配糖体には抑制作用は見られなかった。一方、脂質から人為的に調製した二層膜モデルに対するこれらの物質の親和・結合様式の検証から、2量体は内層、ケルセチンは外層内部に、配糖体は外層表面部に結合することを推測している。前述のガン細胞増殖抑制作用は2量体とケルセチンの細胞膜への結合による膜可塑性の抑制による可能性を指摘している。

Z. A. Alrefaie 等²²⁾は性的に未熟な雌のラットを用いて赤色品種タマネギの含水メタノール抽出物の経口投与試験を実施し子宮の成熟促進効果を確認している。この知見は、ケルセチン、あるいはケルセチンを含む食品の摂取により閉経後の女性ホルモン分泌低下に伴う症候群の防止、ないしは緩和する可能性を示唆する。興味深いことに、子宮成熟促進作用はタマネギと同属のニンニク外皮には認められなかった。ネギ属の各々の種の機能性成分の分化を示唆している興味深い。

F. A. Ramos 等³⁰⁾は黄色タマネギの外皮から抽出分離した、ケルセチンの酸化誘導体である3-(ケルセチン-8-イル)-2,3-エポキシフラバノンがピロリ菌に強い抗菌作用を有し、抗菌活性はオキサシリンと相乗的であることを報告している。

おわりに

全世界でタマネギは主要な野菜のひとつであり、日本国内でも大量に生産され、さらに原価的な問題から加工食品原料として相当量が輸入されている。従来、タマネギから派生する農産廃棄物の有効利用はほとんど注目されてこなかったが、以上で述べたように、タマネギ外皮にはケルセチンとその誘導体をはじめとするポリフェノール成分が含まれる。これらの機能性についても研究報告が散見されるようになり、機能性食品・健康食品素材としての有効利用の余地があるものと思慮される。含有される微量物質の分画・同定は緒についたばかりであり、今後さらに有望な機能性成分が発見される可能性もある。

タマネギ外皮は栽培時に散布される農薬類に直接接触する部位であり、有効利用については無農薬栽培品に優位性がある。通常栽培品では残留化学物質の評価と除去の必要があるだろう。

有限会社備南食研では国産の有機・無農薬栽培のタマネギ外皮を集荷し乾燥粉末に加工し健康食品原料として商品化している(写真1)。興味のある方は御一報くだされば資料、サンプルの提供に応じさせていただきます。



写真1 タマネギ外皮の粉末製品

参考文献

1. 井上 吉之監修,「日本食品事典」(医歯薬出版, 第2版第4刷), p291, 昭和53年10月20日
2. Wikipedia, 2014.3.31
3. Bill Laws (柴田 譲治訳),「図説世界史を変えた50の植物」(原書房, 初版第2刷), p10, 2013年2月25日
4. 本山 萩舟,「飲食事典」(平凡社, 初版第17刷), p385, 昭和53年12月1日
5. FAO, FAOSTAT Production, p102
6. 財務省統計局,「日本の統計 2014」, 7-12 (農作物の作付面積と収穫量)
7. 財務省貿易統計 (輸入), 平 .24(2012)
8. 株式会社 成田山邦のホームページ記事
9. 藤田 智, はなとやさい, p41-43, 2019年8月
10. O. Matsui *et al.*, *Mushroom Sci. & Biotech.*, Vol.9, p117-120, 2001.
11. Z. Bakova *et al.*, *J. of Microbiol. Biotech. & Food Sci.*, Vol.2(2), p426-433, 2012.
12. The Merck Index 9th Ed., p1043, 1976.
13. R. Pulidop *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.48, p3399-3402, 2000.
14. N. Yamamoto *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, Vol.372, p347-354, 1999.
15. T. N. Ly *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.53(21), p8183-8189, 2005.
16. M. Sedeag *et al.*, *Fitoterapia*, Vol. p948-952, 2010.
17. 松井 徳光他, 調理食品と技術, 第13巻, p26-31, 2007.
18. V. Butterweck *et al.*, *Planta Med.*, Vol.66, p3-6, 2000.
19. 寺尾 純二, 四国医誌, Vol.66(5,6), p123-126, 2010.
20. K. Murota *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, Vol.417, p12-17, 2003.
21. A. Paulke *et al.*, *Pharmazie*, Vol.63, p26-302, 2008.
22. Z. A. Alrefaie *et al.*, *J. Appl. Res. Vet. Med.*, Vol.8(3), p170-179, 2010.
23. A. Zhou *et al.*, *Electro-Chem. Commun.*, Vol.9(a), p2246-2255, 2007.
24. 禹濟泰他, 生物機能開発研究所紀要, Vol.4, p11-14, 2004.
25. 岡田 亜紀子他, 学苑生活科学紀要, No.806, p40-47, 2007.12.
26. 瀬部 和義他, 西九州大学健康福祉部紀要, Vol.38, p17-21, 2008.
27. 樋口 寿他, 日本家政学会誌, 第57巻(3), p159-167, 2006.
28. A. Bilyk *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.32, p274, 1984.
29. M. Furukawa *et al.*, *J. of Health Sci.*, Vol.52(2), p578-584, 2008.
30. F. A. Ramos *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.54, p3551-3557, 2006.

赤血球キサントフィルの生理的意義： アルツハイマー病の早期発見と 食品成分による予防を目指して

喜古 健敬 (KIKO Takehiro)¹ 仲川 清隆 (NAKAGAWA Kiyotaka)¹
宮澤 陽夫 (MIYAZAWA Teruo)²

¹ 東北大学大学院 農学研究科

² 東北大学未来科学技術共同研究センター

Key Words：カロテノイド 過酸化リン脂質 アルツハイマー病 予防 赤血球 実験

はじめに

わが国はかつてない高齢化社会を迎え、アルツハイマー病患者が増加し続け、その数は10年前の2倍近くに達し、大きな社会問題となっている。アルツハイマー病の有効な治療法は未だ開発されておらず、アルツハイマー病の発症機構を解明して、治療を可能にすることが待望されている。アルツハイマー病のメカニズムとしては、発症や病状の進行への酸化ストレスの関与が古くから示唆されてきたものの、明確な証拠は得られていないのが現状であった。

そこで、筆者らは、生体膜のリン脂質の過酸化物を高感度かつ選択的に定量できる化学発光検出-HPLC法を開発した¹⁾。これを用いてア

ルツハイマー病患者の血液を測定し、アルツハイマー病患者の赤血球膜には健常者の約2.8倍の過酸化リン脂質(図1)が蓄積していることを見出した^{2,3)}。過酸化リン脂質を多く含む老化赤血球の増加は、血液レオロジーの悪化や脳への慢性的な酸素供給量の低下を引き起こし、アルツハイマー病の発症や進行に繋がると考えられる^{4,5)}。従って、赤血球の過酸化を阻害し、老化赤血球の蓄積を抑制する食品成分を明らかにすれば、栄養指導などにより食品機能を利用して、アルツハイマー病の発症を遅らせ、また進行を抑えることが可能であると予想された。そこで、筆者らは赤血球膜脂質の過酸化を抑制できる食品成分を探索し、動物実験で中性カロテノイドのβ-カロテンや極性カロテノイド(キサントフィル)の一種であるカプサンチン摂取の有効性を確認した^{6,7)}。ヒトへの応用に向け、ヒト赤血球のカロテノイド(図2)に興味を持たれるが、報告は少なく、ヒトの赤血球膜に分布するカロテノイドの種類や存在量、生理作用はほとんど知られていない。これは、血漿のカロテノイドの吸収と代謝やその意義が知られていることと対照的である⁸⁻¹²⁾。筆者らは高速液体クロマトグラフィーを用いて、ヒト赤血球カロテノイド(図2)の分析法を開発し、ヒト(健常者)の赤血球にはルテインなどのキサントフィルが多く分布していることを明らかにした¹³⁾。

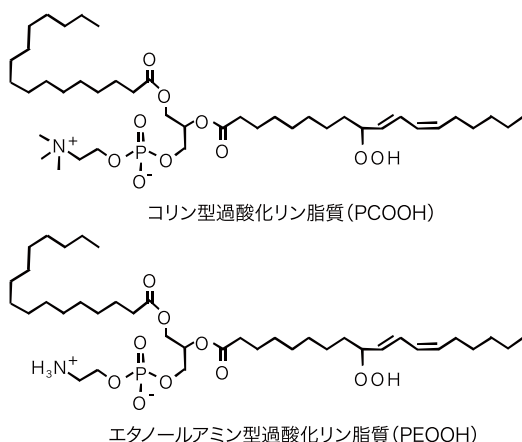


図1 過酸化リン脂質の化学構造。

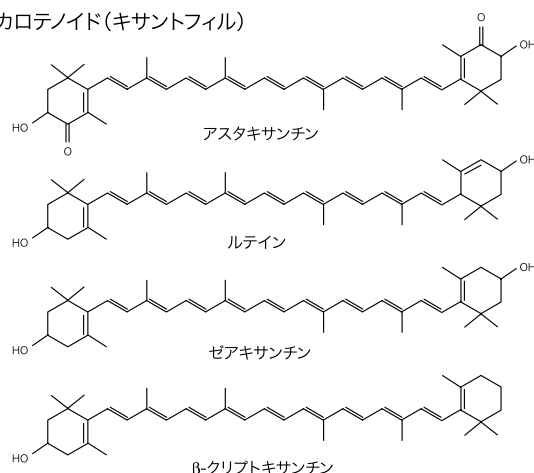
こうした知見から、筆者らは、アルツハイマー病患者における赤血球過酸化リン脂質の高値の検証と、従来知られていない赤血球カロテノイド、とくにキサントフィルとの量的関係の解明を目的とした。さらに、赤血球の過酸化（老化）に着目しながら、キサントフィル摂取の有効性を *in vitro* 試験、マウス試験、およびヒト試験で明らかにしようとした。こうした研究を通じて、アルツハイマー病における赤血球キサントフィルの生理的意義の解明を目指した。また、これらに加えて、アルツハイマー病の早期発見・予防に資するバイオマーカー探索の最新の研究成果についても合わせて紹介する。

1. アルツハイマー病における赤血球老化とカロテノイドの関係

アルツハイマー病患者（男性 15 名、女性 13 名、 74 ± 1 歳（平均 $\pm$ 標準誤差）、BMI（Body mass index） 22 ± 1 kg/m²）と、その健常配偶者（男性 13 名、女性 15 名、 73 ± 1 歳、BMI 23 ± 1 kg/m²）の赤血球と血漿のカロテノイド（UV-HPLC 法）、過酸化リン脂質（化学発光検出-HPLC 法）、ビタミン E（蛍光-HPLC 法）を定量した。

アルツハイマー病患者の赤血球では、極性カロテノイド（ルテイン、ゼアキサンチン、 β -クリプトキサンチン）が全体の 90% 以上を占めた。これは健常者の赤血球カロテノイド組成と同様であったが、アルツハイマー病患者ではいずれの赤血球カロテノイド濃度も健常配偶者に比べ低値で（図 3）、とくに赤血球の主要カロテノイドであるルテインの低下が著しいことを認めた。アルツハイマー病患者の赤血球膜の過酸化リン脂質は、年齢に伴い増加し（平均 83 ± 14 pmol/mL packed cells）、健常配偶者に比べ 3 倍高値であった（図 3）。赤血球膜の過酸化リン脂質とルテイン濃度は逆相関すること

極性カロテノイド(キサントフィル)



中性カロテノイド

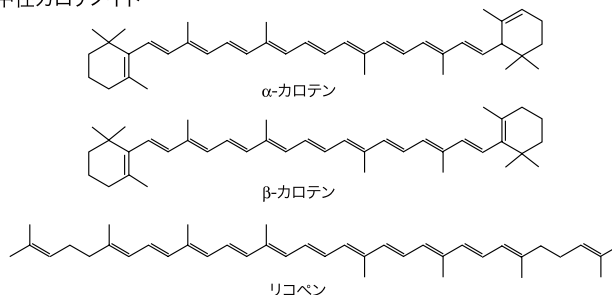


図2 カロテノイドの化学構造。

が明らかとなった（図 4）。血漿の過酸化リン脂質と血中のビタミン E はアルツハイマー病患者と健常配偶者で差はなかった。以上より、赤血球の主要カロテノイドであるルテインが赤血球膜の過酸化抑制に寄与している可能性が示唆された。

2. アルツハイマー病における赤血球老化とカロテノイド濃度低下の機構解明に関する *in vitro* 試験

近年、アミロイド β ($A\beta$, アルツハイマー病要因のひとつ) が血液中に含まれることが明らかになってきており^{14, 15)}, $A\beta$ の赤血球に対する影響についても興味を持たれ始めてきている。赤血球に沈着した $A\beta$ は、赤血球の形態や変形能を悪化させることが報告され¹⁶⁾, $A\beta$ がアルツハイマー病患者の赤血球の過酸化リン脂質の蓄積や、赤血球機能の低下の要因となる可

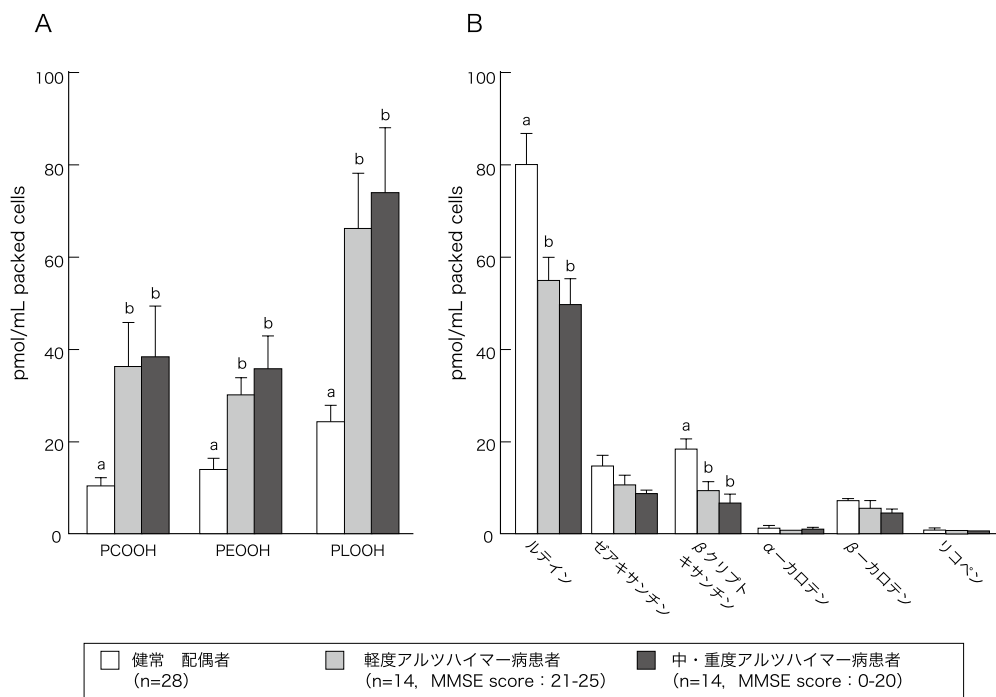


図3 アルツハイマー病患者と健常配偶者における赤血球の過酸化リン脂質濃度 (A) とカロテノイド濃度 (B)。平均値 ± 標準誤差。異なるアルファベットは $P < 0.05$ で差があることを意味する。

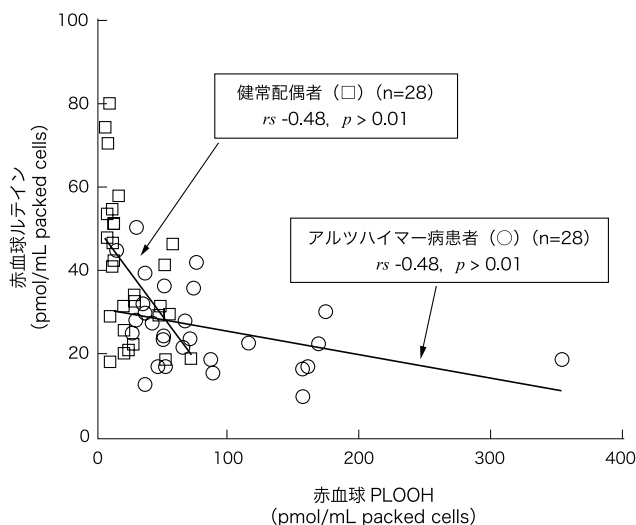


図4 アルツハイマー病患者と健常配偶者における赤血球の過酸化リン脂質濃度 (A) とカロテノイド濃度の相関関係 ($n = 28$)。

能性が推察された。そこで、 $A\beta$ が赤血球膜の過酸化に寄与しているが明らかにするため、*in vitro* 試験で赤血球に $A\beta$ を処理し、赤血球の過酸化リン脂質と抗酸化物質であるカロテノイド

を測定することにした。

in vitro 試験で、健常者赤血球にビオチン化した $A\beta$ ($0 \sim 10 \mu\text{M}$) を処理し、顕微鏡による形態観察とともに、フローサイトメーターにより接着量を測定した。健常者赤血球へ $A\beta$ ($0 \sim 10 \mu\text{M}$) を処理し、過酸化リン脂質、カロテノイドを HPLC により定量した。

in vitro 試験で $A\beta$ を健常者赤血球に処理し、共焦点顕微鏡で観察したところ、 $A\beta$ が赤血球の膜に沈着し、赤血球の凝集が認められた。 $A\beta$ の赤血球への沈着量をフローサイトメーターにより測定すると、濃度依存的かつ時間依存的に接着していた。次に、 $A\beta$ を処理した赤血球の過酸化リン脂質とカロテノイドを測定したところ、アルツハイマー病患者で見られたように過酸化リン脂質濃度は増加し (図 5A)、カロテノイド、とくにキサントフィル濃度は低下していた (図 5B)。 $A\beta$ は

を測定したところ、アルツハイマー病患者で見られたように過酸化リン脂質濃度は増加し (図 5A)、カロテノイド、とくにキサントフィル濃度は低下していた (図 5B)。 $A\beta$ は

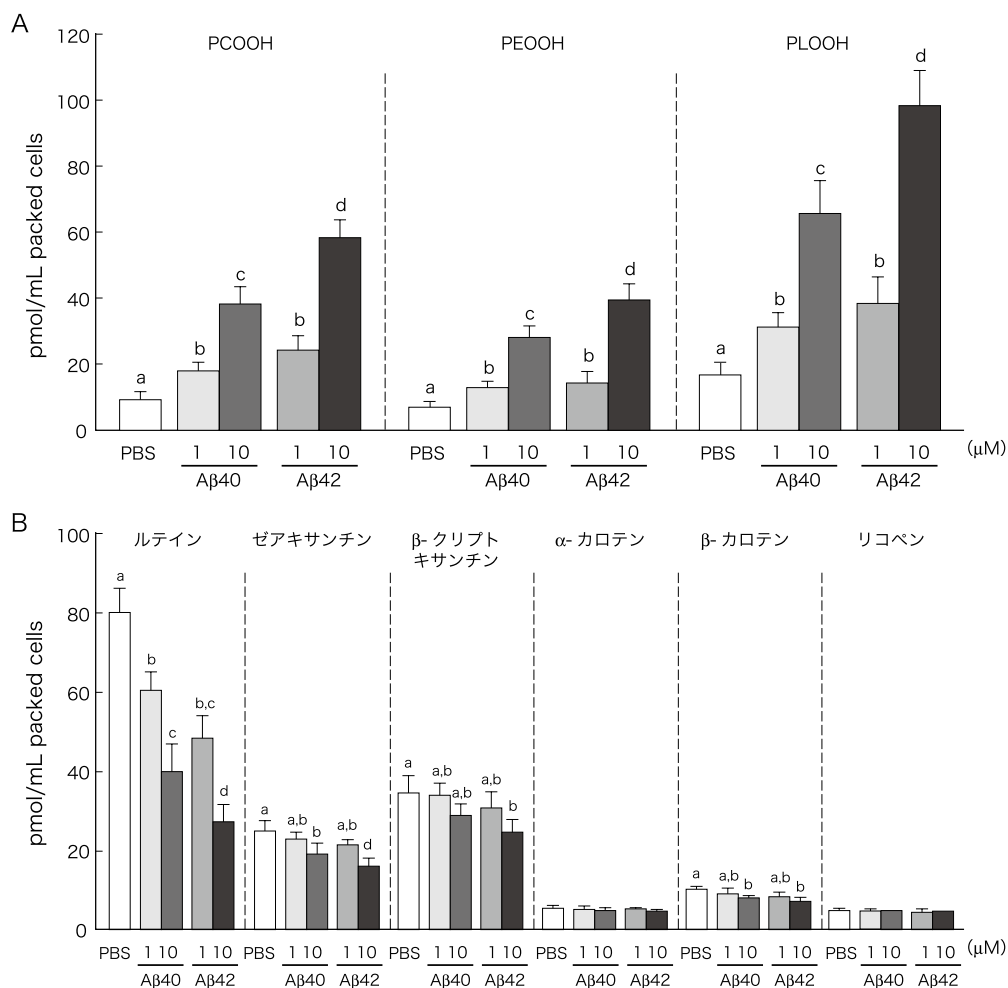


図5 Aβ40 及び Aβ42 の赤血球の過酸化リン脂質 (A), カロテノイド (B) におよぼす影響 (12 時間, 37°C インキュベート後)。平均値 ± 標準偏差 ($n = 3$)。異なるアルファベットは $P < 0.05$ で差があることを意味する。

フリーラジカルを発生し、細胞の損傷、脂質やタンパク質の過酸化を引き起こすことが知られている^{17, 18)}。Aβ は血液中を循環していることから赤血球と容易に接着可能であるため、赤血球膜への Aβ の沈着による赤血球の老化 (赤血球の変性や凝集、脂質過酸化の亢進) により、血液レオロジーの悪化、赤血球の酸素運搬能力の低下による血流の悪化を引き起こす一つの要因となる可能性が考えられた。

3. 赤血球の老化防止のためのカロテノイド摂取の有効性に関する *in vitro* 試験, マウス, およびヒト試験

赤血球の過酸化 (老化) 防止に着目しながら、キサントフィル摂取の有効性を *in vitro* 試験, マウス試験, およびヒト試験で評価した。

in vitro 試験で、健常者赤血球あるいはキサントフィルを多含させた赤血球に Aβ を処理し、顕微鏡による形態観察とともに、過酸化リン脂質とカロテノイドを定量した。マウスにルテインあるいはアスタキサンチン (40 mg/kg/day) を一週間与え、その後に Aβ を尾静脈注

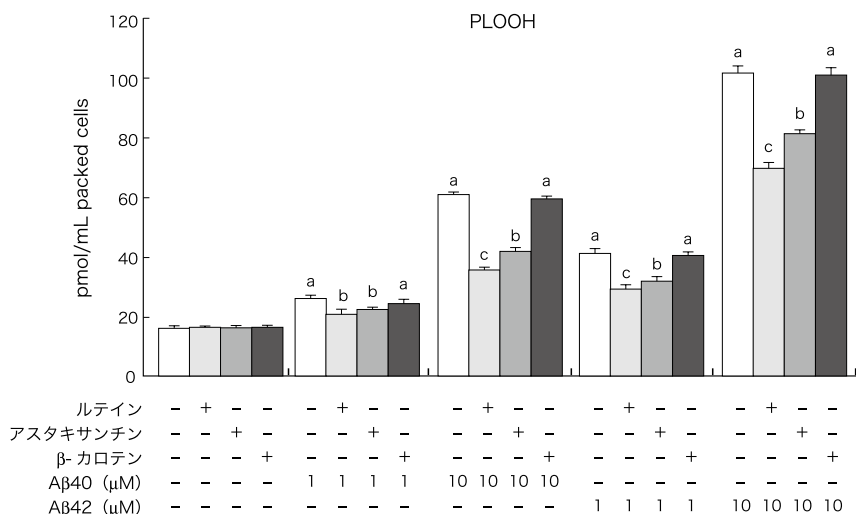


図6 Aβ40 及び Aβ42 による赤血球の脂質過酸化に対するカロテノイドの効果。赤血球に Aβ40 あるいは Aβ42 を 12 時間、37℃ インキュベート処理した。平均値 ± 標準偏差 ($n=3$)。異なるアルファベットは $P<0.05$ で差があることを意味する。

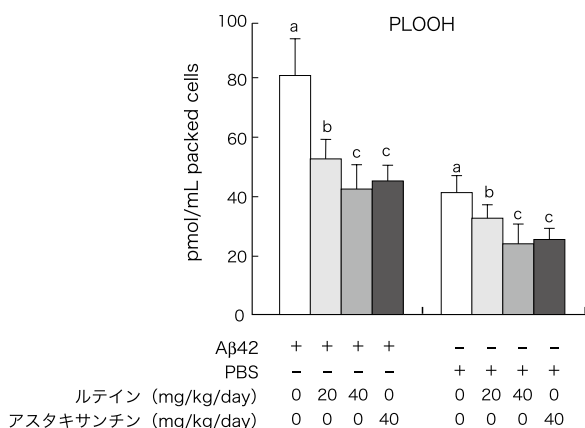


図7 マウスにおける Aβ40 及び Aβ42 による赤血球の脂質過酸化に対するカロテノイド摂取の効果。カロテノイドを多含する赤血球に Aβ40 あるいは Aβ42 を 12 時間、37℃ インキュベート処理した。平均値 ± 標準偏差 (各群 $n=8$, $*P<0.05$)。

射し、赤血球の過酸化リン脂質、カロテノイドを測定した。キサントフィルのサプリメント(アスタキサンチン 0 ~ 12 mg/day) を健常者に 12 週間与え、赤血球のアスタキサンチン、過酸化リン脂質、Aβ を定量した。

in vitro 試験で Aβ をキサントフィル (ルテイン、アスタキサンチン) をあらかじめ高めた赤血球に処理すると、Aβ の沈着や脂質過酸化は

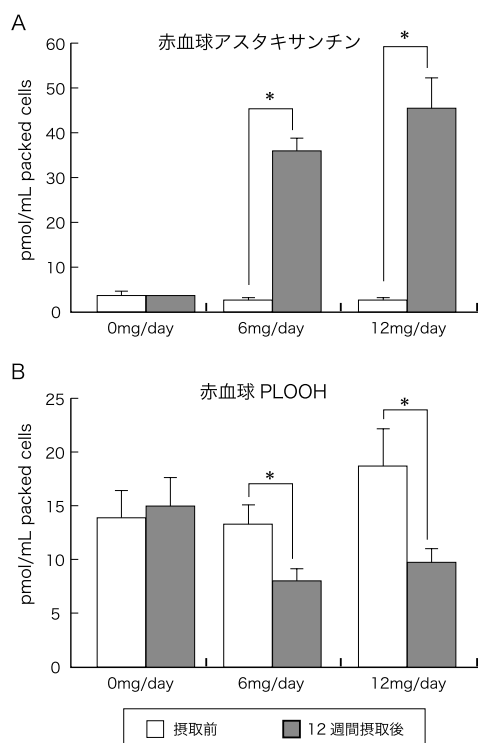


図8 赤血球のアスタキサンチンと過酸化リン脂質の濃度。アスタキサンチン (0, 6, 12 mg/day) を健常者が 12 週間摂取した。平均値 ± 標準偏差 ($n=10$, $*P<0.05$)。

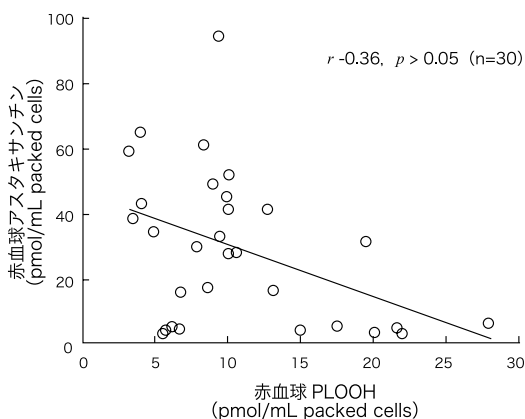


図9 健常配偶者における赤血球の過酸化リン脂質濃度とアスタキサンチン濃度の相関関係 ($n = 30$)。

認められなかったため (図6), キサントフィルの生理的意義として赤血球の抗老化作用が示唆された。動物試験においても, キサントフィル (ルテイン, アスタキサンチン) を摂取させたマウスでは, 尾静脈注射した $A\beta$ の赤血球膜への沈着, 脂質過酸化が抑制された (図7)。そこでヒト試験を行い, アスタキサンチン投与による赤血球のアスタキサンチンの増加, 過酸化リン脂質の低下を認めた (図8, 9)。以上より, 赤血球の老化抑制にキサントフィルの寄与が明らかとなり, キサントフィル摂取によるアルツハイマー病の予防や進行抑制の可能性を見出した。

4. microRNA を用いたアルツハイマー病のバイオマーカー探索

アルツハイマー病では, 治療法の開発に加え, 早期に予防策を実施するため, アルツハイマー病を予見するバイオマーカーの開発が望まれている。しかし, アルツハイマー病の確定診断に使用できるバイオマーカーは十分に発見されておらず, 新しいアプローチが必要とされている^{19, 20)}。ヒトの体内には約1000種のmicroRNA(miRNA)の存在が知られるようになり, この中から疾病マーカー (とくに癌マーカー) を見出そうとする試みが諸外国で始められている^{21, 22)}。これまでにアルツハイマー病患者のmiRNA測定例

は過去にほとんど無く (血漿の測定例は皆無), miRNAの測定方法を構築させることで, 血漿や脳脊髄液から新たなバイオマーカーを見出せる可能性がある。そこで筆者らは, miRNAの測定方法を構築し, アルツハイマー病患者と健常高齢者の血漿と脳脊髄液のバイオマーカー候補miRNA (miR-9, miR-29a, miR-29b, miR-34a, miR-125b, miR-146a) を定量RT-PCRを用いて分析し, アルツハイマー病のmiRNAバイオマーカーを探索した。

アルツハイマー病患者 (男性3名, 女性7名, 81 ± 6 歳 (平均±標準偏差)) と, その健常高齢者 (男性4名, 女性6名, 73 ± 5 歳) の血漿と脳脊髄液の6種類のmiRNA (miR-9, miR-

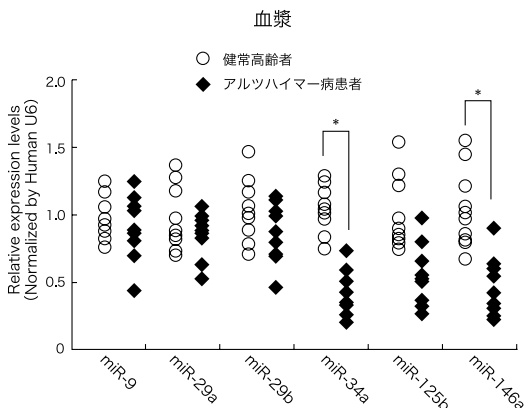


図10 アルツハイマー病患者と健常配偶者の血漿miRNA量 ($n = 10$, $*P < 0.05$)。

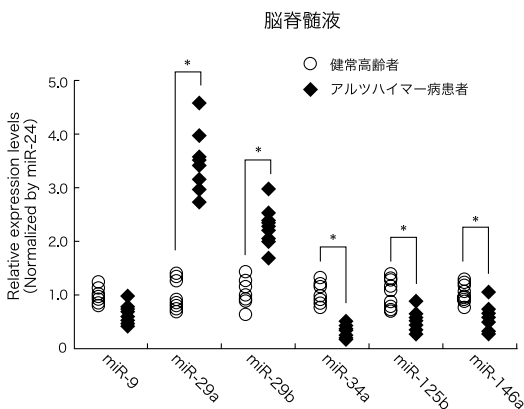


図11 アルツハイマー病患者と健常配偶者の脳脊髄液miRNA量 ($n = 10$, $*P < 0.05$)。

29a, miR29b, miR34a, miR125b, miR146a) を定量 RT-PCR によりした。

血漿及び脳脊髄液の 6 つの miRNA (miR-9, miR-29a, miR29b, miR34a, miR125b, miR146a) は、定量 RT-PCR により測定することができた (図 10, 11)。miR-29a と miR-29b は脳で発現し、アルツハイマー病の原因の一つである A β の発現を抑制すると考えられている²³⁾。本研究の結果から、miR-29a と miR-29b は脳から髄液中に放出されると予想され、脳内 A β の増加 (アルツハイマー症状の増悪化) に繋がるという新たな可能性が示唆された。また、miR-34a や miR-146a などは、アルツハイマー病の要因の一つである酸化ストレスの発生に係ることが知られており、これらの miRNA は脳脊髄液中の濃度が低値となることも明らかとなった。さらに、脳に非常に多く含まれ、ニューロン形成、形態形成、脳細胞増殖に関与^{24, 25)}する miR-9 や miR-125b も、血漿と脳脊髄液で低値であった。こうした結果から、筆者らが見出したアルツハイマー病患者の血漿や脳脊髄液で変動している 6 種の miRNA は、病状との関係が示唆され、それ故、バイオマーカーとしての活用が期待された。今後、血漿や脳脊髄液中に miRNA が排泄されるメカニズムを詳細に解明していくことで、バイオマーカーとしての有用性がさらに高まると考えられた。

おわりに

上述してきたように、筆者らは、赤血球のキサントフィルの生理的意義としての赤血球の老化抑制作用を明らかにした。アルツハイマー病のように長期間の継続的な摂取が想定される場合には、摂取する成分の安全性が特に重要である。ルテインやアスタキサンチンなどのキサントフィルのような食品成分は、その長い食経験から裏付けられた高い安全性に大きな利点があると考えられる。また、血漿、脳脊髄液から新たなアルツハイマー病のバイオマーカー候補を見出すことができた。これらバイオマーカーの活用により、アルツハイマー病発症の前段階で病気の予兆を見出すことができれば、薬だけでなく、日常生活を営みながらキサントフィルを含む食品 (または食品成分) でアルツハイマー病の発症や進展を抑制できる可能性が期待された。

なお、ここで紹介した内容について、筆者らの最近の論文²⁶⁻³⁰⁾も参照いただきたい。

[謝辞]

本実験の一部は、科学研究費補助金 基盤研究 (S) (生体過酸化脂質の生成と制御に関する食品科学的研究, 代表 宮澤陽夫) により実施したものである。

参考文献

1. T. Miyazawa, K. Fujimoto, T. Suzuki, K. Yasuda,; Determination of phospholipid hydroperoxides using luminol chemiluminescence-high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.*, **233**: 324-332, 1994.
2. T. Miyazawa,; Membrane phospholipid hydroperoxides as estimated by chemiluminescence: the effect of dietary polyunsaturated fatty acids. In: Sinclair A, Gibon R. ed. *Essential Fatty Acids and Eicosanoids*. Am. Oil Chem. Soc. Champaign, IL, 383-388, 1993.
3. T. Miyazawa, T. Suzuki, K. Yasuda, K. Fujimoto, K. Meguro, H. Sasaki,; Accumulation of phospholipid hydroperoxides in red blood cell membranes in Alzheimer disease. In: K. Yagi, M. Kondo, E. Niki, T. Yoshikawa, ed. *Oxygen Radicals*. Elsevier, Amsterdam, 327-330, 1992.
4. S.B. Solerte, G. Ceresini, E. Ferrari, M. Fioravanti,; Hemorheological changes and overproduction of cytokines from immune cells in mild to moderate dementia of the Alzheimer's type: adverse effects on cerebrovascular system. *Neurobiol. Aging*, **21**: 271-281, 2000.
5. R.S. Ajmani, E.J. Metter, R. Jaykumar, D.K. Ingram, E.L. Spangler, O.O. Abugo, J.M. Rifkind,; Hemodynamic changes during aging associated with cerebral blood flow and impaired cognitive function. *Neurobiol. Aging*, **21**: 257-269, 2000.

6. K. Nakagawa, K. Fujimoto, T. Miyazawa,: β -Carotene as a high-potency antioxidant to prevent the formation of phospholipid hydroperoxides in red blood cells of mice. *Biochim. Biophys. Acta*, **1299**: 110-116, 1996.
7. A. Asai, K. Nakagawa, T. Miyazawa,: Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**: 2118-2122, 1999.
8. V. Baskaran, T. Sugawara, A. Nagao,: Phospholipids affect the intestinal absorption of carotenoids in mice. *Lipids*, **38**: 705-711, 2003.
9. R. Lakshminarayana, M. Raju, T.P. Krishnakantha, V. Baskaran,: Lutein and zeaxanthin in leafy greens and their bioavailability: olive oil influences the absorption of dietary lutein and its accumulation in adult rats. *J. Agric. Food. Chem.*, **55**: 6395-6400, 2007.
10. R.J. Hung, Z.F. Zhang, J.Y. Rao, A. Pantuck, V.E. Reuter, D. Heber, Q.Y. Lu,: Protective effects of plasma carotenoids on the risk of bladder cancer. *J. Urol.*, **176**: 1192-1197, 2006.
11. S. Valtueña, D. Del Rio, N. Pellegrini, D. Ardigò, L. Franzini, S. Salvatore, P.M. Piatti, P. Riso, I. Zavaroni, F. Brighenti,: The total antioxidant capacity of the diet is an independent predictor of plasma beta-carotene. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **61**, 69-76, 2007.
12. L. Wang, J.M. Gaziano, E.P. Norkus, J.E. Buring, H.D. Sesso,: Associations of plasma carotenoids with risk factors and biomarkers related to cardiovascular disease in middle-aged and older women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **88**: 747-754, 2008.
13. K. Nakagawa, T. Kiko, K. Hatade, A. Akira, F. Kimura, P. Sookwong, T. Tsuduki, H. Arai, T. Miyazawa,: Development of an HPLC-based assay for carotenoids in human red blood cells: application to clinical studies. *Anal. Biochem.*, **381**: 129-134, 2008.
14. M.van Oijen, A. Hofman, H.D. Soares, P.J. Koudstaal, M.M. Breteler,: Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol.*, **5**: 655-660, 2006.
15. R.B. DeMattos, K.R. Bales, D.J. Cummins, J.C. Dodart, S.M. Paul, D.M. Holtzman,: Peripheral anti-Abeta antibody alters CNS and plasma Abeta clearance and decreases brain Abeta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 8850-8855, 2001.
16. R. Jayakumar, J.W. Kusiak, F.J. Chrest, A.A. Demehin, J. Murali, R.P. Wersto, E. Nagababu, L. Ravi, J.M. Rifkind,: Red cell perturbations by amyloid beta-protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **1622**: 20-28, 2003.
17. C. Behl, J.B. Davis, R. Lesley, D. Schubert,: Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity, *Cell*, **77**: 817-827, 1994.
18. R.A. Marr, H. Guan, E. Rockenstein, M. Kindy, F.H. Gage, I. Verma, E. Masliah, L.B. Hersch,: Nephrilysin regulates amyloid Beta peptide levels. *J. Mol. Neurosci.*, **22**: 5-11, 2004.
19. X. Han, S. Rozen, S.H. Boyle, C. Hellegers, H. Cheng, J.R. Burke, K.A. Welsh-Bohmer, P.M. Doraiswamy, R. Kaddurah-Daouk : Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma sphingolipidome using shotgun lipidomics. *PLoS One*, **6**: e21643, 2011.
20. A. Hye, S. Lynham, M. Thambisetty, M. Causevic, J. Campbell, H.L. Byers, C. Hooper, F. Rijdsdijk, S.J. Tabrizi, S. Banner, C.E. Shaw, C. Foy, M. Poppe, N. Archer, G. Hamilton, J. Powell, R.G. Brown, P. Sham, M. Ward, S. Lovestone,: Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain*, **129**: 3042-3050, 2006.
21. P.S. Mitchell, R.K. Parkin, E.M. Kroh, B.R. Fritz, S.K. Wyman, E.L. Pogosova-Agadjanyan, A. Peterson, J. Noteboom, K.C. O'Briant, A. Allen, D.W. Lin, N. Urban, C.W. Drescher, B.S. Knudsen, D.L. Stirewalt, R. Gentleman, R.L. Vessella, P.S. Nelson, D.B. Martin, M. Tewari,: Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**: 10513-10518, 2008.
22. X. Chen, Y. Ba, L. Ma, X. Cai, Y. Yin, K. Wang, J. Guo, Y. Zhang, J. Chen, X. Guo, Q. Li, X. Li, W. Wang, Y. Zhang, J. Wang, X. Jiang, Y. Xiang, C. Xu, P. Zheng, J. Zhang, R. Li, H. Zhang, X. Shang, T. Gong, G. Ning, J. Wang, K. Zen, J. Zhang, C.Y. Zhang,: Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.*, **18**: 997-1006, 2008.
23. Y. Ohyagi, H. Asahara, D.H. Chui, Y. Tsuruta, N. Sakae, K. Miyoshi, T. Yamada, H. Kikuchi, T. Taniwaki, H. Murai, K. Ikezoe, H. Furuya, T. Kawarabayashi, M. Shoji, F. Checler, T. Iwaki, T. Makifuchi, K. Takeda, J. Kira, T. Tabira,: Intracellular Abeta42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *FASEB J.*, **19**: 255-257, 2005.
24. E. Ferretti, E. De Smaele, A. Po, L. Di Marcotullio, E. Tosi, M.S. Espinola, C. Di Rocco, R. Riccardi, F. Giangaspero, A. Farcomeni, I. Nofroni, P. Laneve, U. Gioia, E. Caffarelli, I. Bozzoni, I. Screpanti, A. Gulino,: MicroRNA profiling in human medulloblastoma. *Int. J. Cancer*, **124**: 568-577, 2009.
25. S. Papadia, F.X. Soriano, F. Léveillé, M.A. Martel, K.A. Dakin, H.H. Hansen, A. Kaindl, M. Siffringer, J. Fowler, V. Stefovaska, G. McKenzie, M. Craigon, R. Corriveau, P. Ghazal, K. Horsburgh, B.A. Yankner, D.J. Wyllie, C.

- Ikonomidou, G.E. Hardingham,: Synaptic NMDA receptor activity boosts intrinsic antioxidant defenses. *Nat. Neurosci.*, **11**: 476-487, 2008.
26. K. Nakagawa, T. Kiko, T. Miyazawa, G.C. Burdeos, F. Kimura, A. Satoh, T. Miyazawa,: Antioxidant effect of astaxanthin on phospholipid peroxidation in human erythrocytes. *Br. J. Nutr.*, **105**: 1563-1571, 2011.
27. K. Nakagawa, T. Kiko, T. Miyazawa, P. Sookwong, T. Tsuduki, A. Satoh, T. Miyazawa,: Amyloid β -induced erythrocytic damage and its attenuation by carotenoids. *FEBS Lett.*, **585**: 1249-1254, 2011.
28. T. Kiko, K. Nakagawa, T. Tsuduki, H. Arai, T. Miyazawa,: Significance of Lutein in Red Blood Cells of Alzheimer's Disease Patients. *J. Alzheimers Dis.*, **28**: 593-600, 2012.
29. T. Kiko, K. Nakagawa, A. Satoh, T. Tsuduki, K. Furukawa, H. Arai, T. Miyazawa,: Amyloid β levels in human red blood cells. *PLoS One*, **7**: e49620, 2012.
30. T. Kiko, K. Nakagawa, T. Tsuduki, K. Furukawa, H. Arai, T. Miyazawa,: Circulating microRNAs as markers for Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, **39**: 253-259, 2014.

白石カルシウムの炭酸カルシウム	
	古くから食品に使用されている安全性・吸収性に優れたカルシウム源です。 用途も栄養強化はもちろんのこと、練製品の弾力増強などの品質改良、粉体の流動性向上・固結防止といった加工助剤などその目的は多彩です。
分散性・混合性に優れたものや、飲料用として沈澱を抑制したタイプ等、品揃えております。 - 一般の栄養強化には、「ホワイトン」 - 機能を求めるならば、「コロカルソ」 - 飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」 詳細につきましては、弊社営業担当にお気軽にお尋ね下さい。	
 白石カルシウム株式会社	食品部：東京都千代田区岩本町 1-1-8 TEL. 03-3863-8913 本社：大阪市北区同心 2-10-5 TEL. 06-6358-1181

第 1 回

おせち料理

新しい年を迎え、皆様はどんなお正月を過ごされましたでしょうか？

お正月といえばおせち料理です。おせち料理は、もともと節日（節句）に作られる料理のことでした。節句の一番目が正月であることから正月料理を指すようになったといわれています。

地方により多少の違いはありますが、祝い肴、煮しめ、酢の物、焼き物など多種にわたる食材が使われています。そしてそれぞれの材料に願いを込めた楽しい由緒・いわれがあり日本の食・行事・しきたりの奥深さを感じずにはいられません。

ところが、最近では自宅で手作りおせちは減少傾向だとか……

今年はどこのおせちを注文する？ともっぱら外食産業の目玉商品化やデパート、料理店ではまだ秋だというのに早期予約にヒートアップ商戦。とにかくおせち料理は購入するものという家庭が増えました。「高価な割にはそんなに食べるものないよね～」との声も良く聞かれます。あなたのお宅ではいかがですか？食卓の飾り物になっていませんか？もしそうだとしたらとてももったいない話です。

私は手作りマイおせち派、自分の好みの味付けで楽しんでいます。海の幸・山の幸と何十種類という豊富な食材を、ほとんど油を使わずに調理する料理っておせちをおいてほかにはありません。そうなんです。世界無形文化遺産に登録されたほどの優れたものの“和食”。おせちはヘルシー料理の代表選手なのです。

おせち料理の食材は、肥満・糖尿病・高脂血症・高血圧対策にとっても心強い味方です。たとえば煮しめの材料の蓮根・牛蒡・ゆりね・人参・くわいをはじめとする根菜類は血糖値の急激な上昇を抑える食物繊維豊富な食材です。さらに、黒豆は抗酸化作用をもつカロチノイド系色素アントシアニンを、有頭海老はアスタキサンチンという色素を豊富に含みます。これらの色素は血液をサラサラにし高脂血症改善に役立ちます。ごまめ（田作り）はカルシウムたっぷりですし、数の子には多価不飽和脂肪酸の EPA（エイコサペンタエン酸）や DHA（ドコサヘキサエン酸）が多く含まれており、体内でのコレステロールの合成を抑え体外への排出を速める作用があります。食べ過ぎ飲みすぎで胃が疲れたら消化酵素ジャスターゼいっぱいの大根なますの出番。デザートには甘み控え目のきんとん。大変ヘルシーなフルコースです。市販のものは早めに作り置きするため濃い味付けですが、自分の調理なら好みの薄味に仕立てることができます。匙加減は自由自在です。でも作るのが大変といわれる方、あまりむづかしく考えず出来るものから、そう、簡単な煮しめからでも始めましょう。経費も節約できますよ。

大晦日には美味しい匂いと湯気の立つキッチンで、無事に家族の料理を作れる平穩に感謝し、明けて元旦には未来への希望と幸せを祈りながら美しく飾られたお重に祝い箸をつける……穏やかでやさしい家庭の食卓文化です。

今年一年、お重箱のように皆様の幸せをかさねていきますように。

中村照子（管理栄養士 理学博士）

これまでは大学で栄養学関係の教職に携わり、
蚕や桑葉の栄養機能成分の研究を行う。

現在は、テルコ・ニュートリション株式会社を設立、
管理栄養士国家試験サポートや各種栄養に関する
コンサルタント業を中心とした活動を行っている。

この上なく愛犬ももたらうを溺愛し、
毎朝一緒に野菜ジュースを飲み、散歩している。

病気を予防するコーヒーの飲み方

岡 希太郎 (OKA Kitaro)

東京薬科大学 名誉教授

Key Words：コーヒー滓 コーヒーオイル 罹患リスク カフェストール カーウェオール

はじめに

普通にコーヒーを飲む生活習慣が罹患リスクを軽減する。そういう疫学研究データがシステムティックレビューやメタ解析論文で再評価されている(本誌 Vol.53, No.10, 2013 を参照)。コーヒーで罹患リスクが軽減する疾患には、喉頭がん、肺がん、食道腺がんを除く各種臓器がんがある他、2 型糖尿病、痛風・高尿酸血症、パーキンソン病、アルツハイマー病、心筋梗塞、脳卒中など生活習慣病がある。一方、罹患人口の多い高血圧症や高脂血症とコーヒーの相関関係はほとんどない。しかし、それら疾患の予後となる心筋梗塞や脳卒中では、1 日 4 杯程度のコーヒーはリスクを減らす、杯数が増えると逆転する。このように、コーヒーの影響は一元的で

はない。確かな原因は解らないが、コーヒーには罹患リスクを軽減する成分とは別に、単独でもリスクを高める成分や、リスクを軽減する成分の作用を遮断する成分が含まれている(表 1)。そういう好ましくない成分を飲まないように工夫すれば、コーヒーはこれまで以上に高い効率で罹患リスクを軽減できるようになるだろう。尚、本稿ではカフェインと 5-HMF については省略する。

1. 罹患リスクを高めるコーヒーの成分

1-1. アクリルアミドの発がん性

1-1-1. 遺伝子傷害性の発がん

コーヒーに含まれている発がん性物質はアクリルアミドである。焙煎中に糖とアミノ酸がメ

表 1 罹患リスクを高めるコーヒーの成分

成分名	好ましくない理由	対応法
カフェイン	適量を超えた場合に負の影響の可能性	飲み過ぎに注意する ^{注1)}
アクリルアミド	ヒトに対しておそらく発がん性がある	深煎りコーヒーの飲み過ぎに注意する ^{注2)}
5-HMF	ヒトに対して発がん性を示す可能性がある	否定されつつあり、安全である ^{注3)}
カフェストール	LDL コレステロール、トリグリセリドの上昇	ろ過したコーヒーを飲む ^{注4)}
カーウェオール	同上	同上
HHQ	活性酸素源、クロロゲン酸の作用に拮抗	活性炭で除去できる ^{注5)}

注1) 健康な人の場合、1 日 5 杯以内なら負の影響よりもリスク軽減作用が強く出る。妊婦、授乳婦は 1 日 1 杯までとする。

注2) この物質が原因で発がんした例はない(本文を参照)。

注3) 近年、発がん性は事実上否定されているが、教科書などの一覧からはまだ削除されていない。

注4) この 2 つはジテルペンに分類される(本文を参照)。

注5) 花王の特保ヘルシア缶コーヒーは HHQ を除去して開発された(本文を参照)。

イラード反応を起こして産生する。国際がん研究機関（IARC）のリストによると、アクリルアミドは動物実験で遺伝子傷害性を示したので分類 2A「ヒトに対しておそらく発がん性がある」に属すとなっている。しかし、食品のアクリルアミドが原因で発がんしたという具体的な報告はない。

食品中のアクリルアミドについて、分析値は厚労省、調理法など対策については農水省のホームページに詳しく書かれている。大事なことは、厚労省が2013年になって、アクリルアミドの毒性を「遺伝子傷害性の発がん物質」と評価したことである¹⁾。もしその発癌性が遺伝子傷害をとまわらないならば、日常摂取するときの安全域の目安を定めることができる。しかし、遺伝子傷害性がある場合には、摂取量がどんなに少なくとも発癌リスクを否定できないので、安全な目安を定めることはできない。アクリルアミドを含む製品を製造しているメーカーは、製品が含むアクリルアミドの減量について、念のためとはいえこれまで以上に工夫を迫られることになる。

1-1-2. コーヒーのアクリルアミド

アクリルアミドは食品に添加される物質ではない。人類が火を使いはじめからずっと食べ続けてきた物質なのである。焙煎コーヒー豆のアクリルアミドも同じであるが、他の食品との違いは、230℃というほぼ発火点に達する高熱処理を受けていることである。厚労省の測定値によれば、焙煎コーヒー豆のアクリルアミドの量は動物実験の一応の安全域にあるとはいえ、焙煎度と含有量の関係など検討課題がないわけではない。

もう1つ重要な点は、化学試薬としてのアクリルアミドと、コーヒーに含まれるアクリルアミドの生物活性は異なることである。化学試薬としてのアクリルアミドを動物に投与しても、薬理作用が修飾されることはない。一方、アクリルアミドを含む食品の場合には、食品中に共存する抗がん・抗酸化物質によってアクリルアミドによる遺伝子傷害リスクが軽減される可能

性がある。

最後に、アクリルアミドは水によく溶けるため、コーヒー抽出液から除去する方法はまだ開発されていない。

1-2. ジテルペンと高脂血症

1-2-1. ジテルペンと血清コレステロール値の関係

前世紀の後半、北欧諸国では、コーヒーを飲む人の血圧は高く、血清コレステロール値も高いことが解っていた²⁾。北欧諸国で普通に飲まれていた煮出しコーヒーの小規模臨床試験が行われ、原因はコーヒー滓にあると指摘されたが、関与成分は不明だった³⁾。

煮出しコーヒーの特徴は、コーヒー滓を飲んでしまうことである。コーヒー発祥のイスラム教諸国では今でも普通に煮出しコーヒーを飲んでいる。特にトルコ式コーヒーは、綺麗に装飾した小鍋を使うので、日本にも愛好家が大勢いる。しかし、コーヒー滓のなかには、飲むと血清コレステロール値を高くする成分が入っている。

オランダ・ワーゲンニンゲン農業大学のKatanらは、コーヒー滓からジテルペンを抽出し、それがカフェストールとカーウェオールであることを突きとめた⁴⁾。彼らはジテルペンを含むコーヒーオイルを健康者に投与して、血中コレステロールと中性脂肪の濃度変化を測定した。その結果、ジテルペンはLDLコレステロール値とトリグリセリド値を高くすることが証明された。

ジテルペンを飲むと、血中脂質が高まるだけでなく、肝逸脱酵素であるALT（アラニンアミノ基転移酵素）も上昇する⁵⁾。原因は何らかの肝障害と考えられる。動物実験では、コレステロールから胆汁酸への代謝経路が阻害される⁶⁾。しかしヒトの場合には、そのような代謝経路の阻害は起こっていない。ヒトと動物とでは状況が異なっていると考えられる⁷⁾。

1-2-2. コーヒーオイルとジテルペン

文献を整理してみると、コーヒー滓が多いほどジテルペンの量も多いことが解る（図1）。だ

がトルコ式と煮出しコーヒーを比較すると、煮出しコーヒーはコーヒー滓が少ない割にジテルペンが多いことに気づく。即ち、煮出しコーヒーには、コーヒー滓の他にもジテルペンが入っている場所がある。それがコーヒーオイルである。

焙煎したコーヒー豆のなかでジテルペンはコーヒーオイルに溶けている⁸⁾。焙煎が深くなると、高熱で産生した炭酸ガスや揮発性有機物が豆の内部に充満して膨張し、ハニカム構造の隔壁を破壊する(図2)。漏れ出したコーヒーオイルにはジテルペンの他、香り化合物や着色物質が溶け込んで黒光りしている。一方、オイルに溶けない物質はハニカム構造の内部に留まっている。

コーヒーオイルに溶けているジテルペンは、主にカフェストールとカーウェオールのパルミチン酸エステルである(図3)⁹⁾。これらは水に難溶性で、熱湯にも溶解しない。しかし、コーヒー滓とコーヒーオイルに入っているもので、トルコ式や煮出しコーヒーを飲めば滓やオイルも飲み込まれて、消化吸収されるのである。

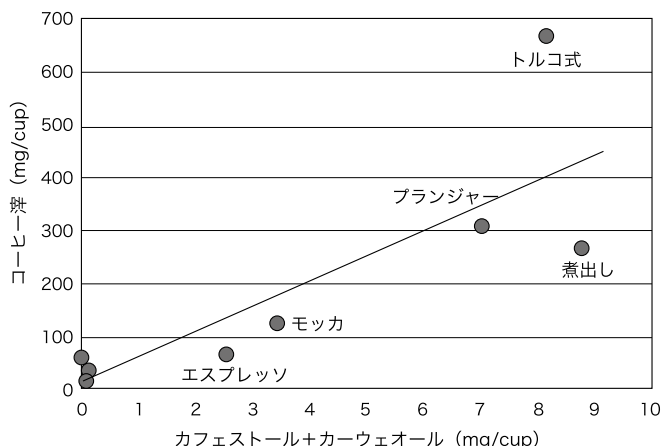


図1 コーヒー抽出液に混ざっている滓とジテルペンの量の関係

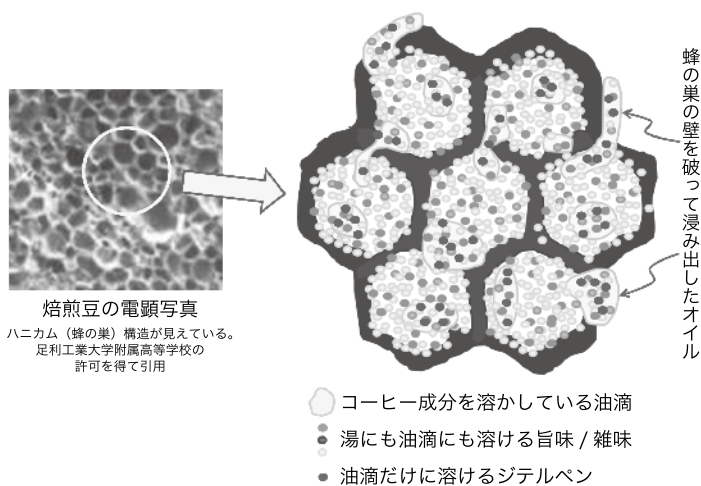


図2 焙煎豆のハニカム構造と滓のなかのオイルと旨味 / 雑味(想像図)

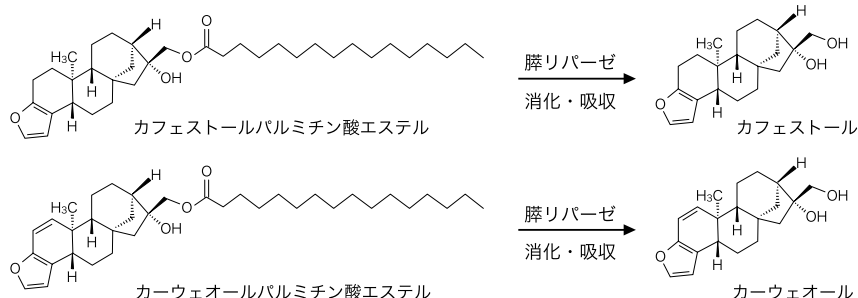


図3 コーヒーオイルに溶けているジテルペンと膵リパーゼによる加水分解(消化)

ジテルペンはパルミチン酸エステルとしてコーヒーオイルに溶けている。湯には溶けないが、飲めば十二指腸で消化され、カフェストールとカーウェオールになって小腸で吸収される。

1-2-3. ジテルペンの吸収と作用

コーヒー滓とコーヒーオイルを飲むと、十二指腸で消化酵素リパーゼの作用を受ける。リパーゼは胆汁に溶けてコーヒー滓にも浸透する。滓のなかに入ったリパーゼは、コーヒーオイルを消化し、同時にジテルペン・パルミチン酸エステルも消化して、カフェストールとカーウェオールを単量体に変換する（図3）。単量体は水に溶けて滓から溶け出し、小腸に達して吸収される¹⁰⁾。滓ではなくオイルに溶けたジテルペンは容易にリパーゼで消化され、吸収される。

小腸から吸収されたジテルペンは、門脈を通して肝臓に入り、コレステロールから胆汁酸への代謝を阻害する。その結果、過剰となったコレステロールはLDL粒子に取り込まれて血中に入り、血管壁病変の原因となり、血圧の上昇にも影響する。また、過剰なLDLは肝での脂肪蓄積を促し、脂肪肝を形成して慢性肝炎のリスクを高め、血中ALTを上昇させる^{5,8)}。

小規模ヒト試験ではあるが、ジテルペン投与量と血清コレステロール値の関係が測定されている⁵⁾。健康男性10名が図4に示す煮出しコーヒーを1日5杯程度を飲んでいると、4週間後に平均ほぼ30mg/dLの総コレステロール値の上昇が見られた。この結果は、滓やオイルを飲み続けると、高脂血症、高血圧、脂肪肝などのリスクが高まることを示している。

1-2-4. 抽出法で異なるジテルペンの量

図1に示したように、コーヒー豆から抽出されるジテルペンの量は抽出方法によって大きく異なっている。それぞれの抽出方法によるジテルペン量の違いを文献（引用元省略）で調べてみた。結果を図4にまとめて示す。

この図でジテルペン量の多い上位4つの方法のうち、プランジャー（フレンチプレスとも呼ぶ）とエスブ

レッスンの2つは、日本の家庭でも普通に使われている。海外の疫学研究には、普段コーヒーを飲まない人がたまにコーヒーを飲むと、血中脂肪が増えたり血圧が上がったりするデータが多い。その理由として、滓やオイルを飲んでいるからとの説明には説得力が感じられる。日本ではフィンランドのように政府自らがコーヒーの飲み方を啓蒙するなどとは想像できない。だが図4から解することは、コーヒーを飲む習慣が一步間違えると罹患リスクを減らすどころか、逆に増やすことになるということである。

1-3. 活性酸素源としての HHQ

1-3-1. 焙煎でできる HHQ

HHQ（ヒドロキシヒドロキノン）はポリフェノールの1種であるが、いわゆる抗酸化性を示す植物性ポリフェノールではない。HHQは、コーヒー豆の焙煎でコーヒー・ポリフェノール（以下、クロロゲン酸）が熱分解を起こして産生する物質である¹¹⁾。浅煎りの豆には僅かであるが、深く煎ると次第に増えて、無視できなくなる。コーヒー1杯に含まれているHHQの量は多くても1mg前後であるが、水や酸素と反応してラジカルを生成するので、飲めば想像以上の影響を及ぼす。

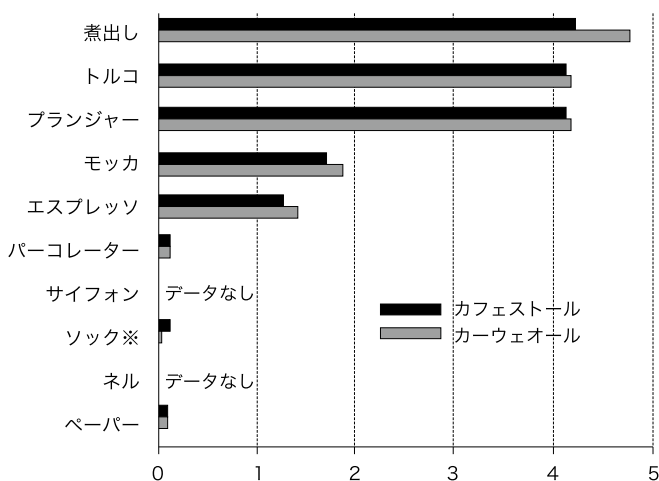


図4 コーヒー抽出液中のジテルペン類の濃度 (mg/cup)

※ソックとは、綿製の靴下生地で縫ったろ過袋のことで、中南米と東南アジアでは古くから伝わるごく普通の抽出道具である。

1-3-2. HHQ とクロロゲン酸の相互作用

菊川らは、インスタントコーヒーに含まれている HHQ が活性酸素源となり、遺伝子 DNA 鎖を切断すると報告している¹²⁾。切断の機序は、HHQ が水中で酸素と反応し、スーパーオキシドを経て過酸化水素を産生するからである¹³⁾。この反応はヒトの体内でも進行するので、コーヒーを飲むと尿中に H_2O_2 が排泄される。しかし、コーヒーを飲んだヒトの体内で DNA 鎖の切断が起こるという直接的な証拠はないし、疫学研究ではむしろ否定的である。

この微量の HHQ がクロロゲン酸の降圧作用を阻害する。いわば HHQ とクロロゲン酸の相互作用である。(株)花王の研究陣は、クロロゲン酸を単独で投与すると降圧作用を示すのに、焙煎コーヒーには降圧作用が認められないことに着目し、原因を探求した¹⁴⁾。研究成果の概略として、クロロゲン酸は単独で血管内皮機能を改善するが、HHQ を同時投与すると、HHQ 由来の活性酸素がクロロゲン酸の作用を阻害した。さらに、その阻害は SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) を投与すると解消した¹⁴⁾。クロロゲン酸の作用発現は NO に仲介されているのに、HHQ の同時投与は血管壁の NO を無駄に消費してしまうのである。

コーヒーを飲んでクロロゲン酸の好ましい薬理作用を得るためには、HHQ を除去しておく必要がある。そのため花王は HHQ を優先的に吸着除去する活性炭を開発して目的を達成した。この研究成果は、「脂肪を消費しやすくする缶コーヒー」にも応用され、現在特定保健用食品の承認を得て市場に提供されている。

HHQ を除去する方法がレギュラーコーヒーにも応用できれば、普通にコーヒーを飲む生活習慣が高血圧と高脂血症の罹患リスクを軽減するはずである。

1-3-3. HHQ のがん細胞抑制作用とその代償

最近、HHQ が産生する活性酸素が培養乳がん細胞のアポトーシスを誘導し、細胞死をもたらすと報告された¹⁵⁾。乳がん細胞に取り込ま

れた HHQ は活性酸素を発生し、ミトコンドリア膜の透過性を低下させ、アポトーシス促進因子である Bax とカスパーゼ-8 を活性化し、解糖系酵素である GPK1 と PKM2 を制御することなどが観察された。これらの現象から推察すると、HHQ は核内転写因子である PPAR γ のリガンドであると考えられる。著者らはこの特性を利用して、HHQ を乳癌治療に応用するというのである。

しかしよく考えてみると、活性酸素源としての HHQ は血管内皮機能に傷害を及ぼすので、コーヒーの多飲が冠疾患や脳卒中のリスクを高める可能性を無視できない。HHQ を医薬品のように使うとしたら、その代償は余りにも大きいと言わざるを得ない。

2. 罹患リスクを軽減するコーヒーとは

毎日コーヒーを飲むことで罹患リスクを軽減し、コーヒーの病気予防効果を最大限に引き出すことができれば、健康寿命の延長につながると思われる。以下に述べるコーヒーの飲み方が、そのための目安になることを期待したい。

2-1. ろ過法による滓とオイルの除去

2-1-1. 滓の除去

コーヒーの個人消費量が世界一のフィンランドでは、かつて煮出しコーヒーが家庭で淹れるごく普通のコーヒーだった。しかし、コーヒー滓を飲むことが人々の健康によくないことが解ってくると、フィンランド国家栄養審議会がペーパーフィルターでろ過したコーヒーを飲むように啓蒙活動を開始した。今世紀になってからは多くの家庭がコーヒーの淹れ方に気配りするようになり、市販のコーヒー豆パッケージにもピクトグラム (絵文字) が印刷されるようになった。

図4に示したように、コーヒー・ジテルベンが最も多くなる抽出法は、煮出し、トルコ式、プランジャーの3つである。ついでエスプレッソとモッカがあるが、この2つにはプランジャーと同じく不完全ながらもろ過フィルター

が組み込まれている。フィルターを適切に改善すれば滓の混ざらないコーヒーを淹れることができる。

滓が最も少ない抽出法は、圧倒的にフィルターを使ってろ過する方法である。なかでも綿または紙のフィルターが最も効率がよい。海外ではソックと呼ばれる綿フィルターが長い歴史を持っているが、日本ではネルドリップという独特の方式が普及している。

2-1-2. オイルの除去

次にコーヒーオイルの除去について述べる。基本的にはコーヒーオイルで黒光りするほど深く煎った豆は、深煎りコーヒー独特の焦げ臭を放ってくれるが、罹患リスクの軽減にとっては否定的である。黒光りの原因はハニカム構造から漏出したコーヒーオイルにある(図2)。コーヒーオイルもジテルペンの供給源なのである。コーヒーオイルを除去するには、やはり綿か紙のフィルターを使う。この場合、抽出速度が速いと、セルロースの網目に付着したオイルが剥げ落ちる原因になるので、ゆっくりと湯を注ぎ、時間をかけて抽出するのが良いとされている。

コーヒーオイルの除去に綿と紙のどちらがよいかという問いには答えがない。その差は専門家でも区別が難しい味と香りの僅差であって、科学ではどうにもならない個人の感性の領域である。

2-2. 病気を予防する成分ブレンド

2-2-1. 浅煎りと深煎りで異なる有効成分

コーヒーの疾患予防効果を説明する薬理学では、先ず有効成分を絞り込む。詳細は本誌 Vol.53, No.10 に詳しく書いたので、ここでは要点のみ紹介する。第1にあらゆるコーヒーに共通する成分としてカフェイン、第2に生豆と浅く煎った豆に特有のクロロゲン酸、そして第3に深く煎った豆だけに含まれているニコチン酸類(ニコチン酸、メチルピラジ

ンなど一部の香り成分)とNMP(N-メチルピリジニウム塩)の4つがある(図5)。1日数杯のコーヒーを飲めば、これらの成分の薬理作用量が体内に取り込まれ、それぞれの作用だけでなく、成分どうしの相乗効果が期待できるのである。また生豆にはトリゴネリンやジテルペンの無視できない量が含まれているが、疾患予防に寄与するような薬理作用は見出されていない。

2-2-2. 成分ブレンドの相乗効果

コーヒーの有効成分は浅煎りと深煎りで異なっているから、健康な人が病気予防のために飲むコーヒーとは、すべての有効成分を摂取できるように、浅煎りと深煎りの豆をブレンドすることである。相乗効果を期待するならば、浅煎りと深煎りを同時に飲むことが条件になる。このように有効成分に注目するブレンドのことを、筆者は「成分ブレンド」と呼んでいる。海外ではウイーン大学のSomozaらと南フロリダ大学のCaoらが、それぞれがん予防と認知症予防の目的で同様なブレンド法を提案している。

相乗効果とは、2つの異なる成分が異なる作用点に働くことにより、効果器の反応が最大になることである。浅煎り豆と深煎り豆とカフェインの3者は、互いに相乗効果を発揮する可能性が高い(図5)。例えばカフェインと浅煎り豆のクロロゲン酸の相乗効果を見てみよう。

コーヒー・ポリフェノールとしてのクロロゲン酸の抗酸化作用が注目されている。抗酸化作用とは、細胞内の過剰で有害な活性酸素を還元



図5 焙煎度で異なるコーヒーの薬理作用成分と相乗効果

的に消去することである。それでも消去されずに残った活性酸素は、酵素などの機能性タンパク質を失活させることがある。このとき細胞が死を免れるためには、オートファジー（自食作用のこと）と呼ばれる自己消化能力を発揮しなければならない。カフェインの役割はオートファジー機能の活性化であり^{16, 17)}、傷ついたり不要になったタンパク質をアミノ酸に戻し、次いで必要なタンパク質を合成して、栄養素をリサイクルすることである。

リサイクル機能が働かないとき、細胞内は傷害物質で充満し、細胞は死んで周辺組織に炎症反応を誘発する。つまり病気になるのである。カフェインは、炎症反応が病気として顕在化する前に防ぐという独特の抗炎症性物質なのである。

このように、カフェインとクロロゲン酸はそれぞれ異なる作用点に働いて、共同して炎症反応を予防するという相乗効果を発揮する。

3. 病気を予防するコーヒーの淹れ方と飲み方

3-1. 豆の選び方

成分ブレンドでは、浅煎り豆と深煎り豆をブレンドする。市販の浅煎り豆はクロロゲン酸含有量としては不足である。自分で焙煎するとき、1ハゼ音の中間程度を基準にすれば味もよい。浅ければ浅いほどクロロゲン酸量は多いが、味と風味は不十分である。

深煎り豆は黒光りがはじまる直前を目安にするとよい。ただし、深煎り独特の苦味と焦げ臭を期待するなら、黒光りするまで焼いて、あとは抽出でオイルを除くことができる。市販の深煎り豆には良いものがたくさんある。

次にブレンド比としては1:1が基準であるが、個人の好みで比率を変えるなら、7:3または3:7の範囲内が適切である。この比率の範囲内であれば、1日2~3杯で、各成分の薬理作用量を摂取できる。筆者はワルツ株式会社（愛知県豊橋市）との共同で、成分ブレンドコーヒーの味と成分のバランスを追究して上記の結果を得た（日本特許第4771063号を参照）。

3-2. 抽出方法

罹患リスクを高める成分のうち、比較的簡単に除去できるのはジテルペンである。この成分は滓とオイルに入っているの、綿製でも紙製でもフィルターを使えば簡単に除去できる。滓は金属やプラスチックなどのフィルターでも除去できるが、オイルの場合は紙か綿製に限られる。紙や綿の素材はセルロースなので、その繊維質がオイルを付着してくれるのである。

プランジャー、エスプレッソ、モッカ、あるいはサイフォンのように、道具の一部にフィルターが使われている場合、その性能に不備があると滓が漏れ出す。特にプランジャーとエスプレッソの場合には、湯に圧力をかけて短時間で抽出するので、微粉末やオイルはフィルターを通過してしまう。健康に留意しつつこれらの抽出法を楽しむのであれば、フィルターを改善して対応するしかない。

3-3. 1日の回数とタイミング

疫学研究のデータによれば、調査対象に選ばれた全疾患に配慮するなら、1日3.5杯（実際には3~4杯）が最善である。特に心臓と脳に注目すれば、5杯を超えると罹患リスクが1.0を超えてくる。糖尿病や肝臓病では飲めば飲むほどリスクは下がるが、飲み過ぎには必ず予期せぬ代償が付き纏うことに留意すべきである。

おわりに

コーヒーの疫学研究はほぼその全貌が見渡せるようになった。ここから先は更なる新知見を追究する臨床試験や実験科学的根拠の解明に期待が掛かる。コーヒーの有効成分の組み合わせは、他の自然の食材に例を見ないほど独特であり、予防医療の素材としての期待は大きい。コーヒーは既に世界の人々に愛される飲みものになっているので、より効率的に健康を維持するような抽出法や飲み方が問われている。

参考文献

1. 登田 美桜, 畝山 智香子, 山本 都, 森川 馨: 食品中のアクリルアミドに関する最近の動き—JECFA による新しいリスク評価を中心に—. 国立衛研報 **123**:63-67, 2005.
2. Stensvold I, Tverdal A, and Foss OP. The effect of coffee on blood lipids and blood pressure. Results from a Norwegian cross-sectional study, men and women, 40-42 years. *J Clin Epidemiol* **42**: 877-84, 1989.
3. van Dusseldorp M, Smits P, Lenders JW, *et al.* Boiled coffee and blood pressure. A 14-week controlled trial. *Hypertension* **18**: 607-13, 1991.
4. Urgert R and Katan MB. The cholesterol-raising factor from coffee beans. *JR Soc Med* **89**: 618-623, 1996.
5. Urgert R, Essed N, van der Weg G, *et al.* Separate effects of the coffee diterpenes cafestol and kahweol on serum lipids and liver aminotransferases. *Am J Clin Nutr* **65**: 519-524, 1997.
6. Pst SM, de Roos B, Vermeulen M, *et al.* Cafestol increases serum cholesterol levels in apolipoprotein E*3-Leiden transgenic mice by suppression of bile acid synthesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**: 1551-1556, 2000.
7. Boekschoten MV, Hofman MK, Buytenhek R, *et al.* Coffee oil consumption increases plasma levels of 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one in humans. *J Nutr* **135**: 785-789, 2005.
8. Mensink RP, Lebbink WJ, Lobbezoo IE, *et al.* Diterpene composition of oils from Arabica and Robusta coffee beans and their effects on serum lipids in man. *J Intern Med* **237**: 543-550, 1995.
9. Lam LKT, Sparnins and Wattenberg LW. Isolation and identification of kahweol palmitate and cafestol palmitate as active constituents of green coffee beans that enhance glutathione S-transferase activity in the mouse. *Cancer Res* **42**: 1193-1198, 1982.
10. De Roos B, Meyboom S, Kosmeijer-Schuil TG, *et al.* Absorption and urinary excretion of the coffee diterpenes cafestol and kahweol in healthy ileostomy volunteers. *J Intern Med* **244**: 451-460, 1998.
11. Müller C, Lang R and Hofmann T. Quantitative precursor studies on di- and trihydroxybenzene formation during coffee roasting using “in bean” model experiments and stable isotope dilution analysis. *J Agric Food Chem* **54**: 10086-10091, 2006.
12. Hiramoto K, Li X, Kato T, *et al.* Identification of hydroxyhydroquinone in coffee as a generator of reactive oxygen species that break DNA single strands. *Mutat Res* **419**: 43-51, 1998.
13. 菊川清見, 加藤哲太: 変異原の生成・低減と抗酸化剤. 環境変異原研究 **25**: 127-35, 2003.
14. Suzuki A, Fujii A, Yamamoto N, *et al.* Improvement of hypertension and vascular dysfunction by hydroxyhydroquinone-free coffee in a genetic model of hypertension. *FEBS Lett* **580**: 2317-2322, 2006.
15. Shashni B, Aharma K, Singh R, *et al.* Coffee component hydroxyl hydroquinone (HHQ) as a putative ligand for PPAR gamma and implications in breast cancer. *BMC Genomics* **14**(S5): 56, 2013.
16. Sinha RA, Farah BL, Singh BK, *et al.* Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice. *Hepatology* **59**: 1366-80, 2014.
17. Mathew TS, Ferris RK, Downs RM, *et al.* Caffeine promotes autophagy in skeletal muscle cells by increasing the calcium-dependent activation of AMP-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* Sep 28, 2014.

はだか麦の隠れ機能の利活用について

渡部 保夫 (WATANABE Yasuo) 清水 芽依 (SHIMIZU Mei)

愛媛大学 農学部

Key Words：健康寿命 食物繊維 グルカン 大麦 はだか麦 もち麦 食生活 主食

はじめに

隠し味とは「ある調味料を目立たぬ程度にごく少量加え、全体の味を引き立てる調理法。また、その調味料」(広辞苑)とある。本稿で紹介する「はだか麦(大麦)」は、非常に多くの食物繊維(β グルカン)を含む炭水化物(デンプン)源であり、言い換えれば、炭水化物の摂取を目的に「はだか麦」デンプンをとると、自然に(無意識に)健康に良い機能性物質が摂取できる。機能性が隠れているのであり、「はだか麦の隠れ機能」といえる。本稿では、はだか麦を摂取することで健康寿命を延ばすことができるとの考えから、はだか麦の隠れた機能の利活用についてご紹介する。なお、はだか麦だけを食えばよいということではなく、「はだか麦」を含み、かつ栄養バランスのとれた食事が大切である。

1. 健康寿命の延伸のために

「健康」とは「身体に悪いところがなくすこやかなこと。達者。丈夫。壮健」(広辞苑)と

ある。「平均寿命」が世界一の水準である我が国でも、「健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる時期」¹⁾である「健康寿命」と平均寿命は当然イコールではない。平成26年度版厚生労働白書¹⁾には、両者の差は「平成22年において男性で約9歳、女性で約13歳」で、健康寿命の方が短いと記載されており、「この差が大きくなると医療費や介護給付費用を消費する期間が増大すること」を指摘している。「疾病予防と健康増進、介護予防などによって、平均寿命と健康寿命の差を短縮することができれば、個人の生活の質の低下を防ぐとともに、社会保障負担の軽減も期待できる」と述べている¹⁾。全くその通りである。更に、都道府県別でも健康寿命には差異がある。男性で愛知県の約72歳から青森県の約69歳、女性で静岡県約75歳から滋賀県72歳であるとされている。「健康寿命の最も長い都道府県の数値を目標として、各県において健康寿命の延伸を図るよう取り組み、都道府県格差を縮小することを目指すべき」としている。厚生労働省の取組みとして、

Corresponding author：渡部保夫 (Yasuo Watanabe)

連絡先：〒790-8566 愛媛県松山市樽味3丁目5番7号

愛媛大学農学部生物資源学科応用生命化学専門教育コース

E-mail：watanabe.yasuo.mg@ehime-u.ac.jp

Tel/Fax：089-946-9849

『国民の健康寿命が延伸する社会』に向けた予防・健康管理に関する取組みの推進、個人による健康管理、疾病予防、介護予防の取り組みの支援、栄養・運動・休養に関する基準の改定」などを上げている。これは抽象的な表現であるが、それぞれの自治体や企業、団体での取組み事例も紹介している。

食事や食品に関連する事項をピックアップすると、「地方公共団体は、保健師・管理栄養士などが中心となって、地域住民に対し、健康の保持・増進を目的とした様々な取組み」を行うとし、「地域住民に対する栄養指導等に従事する行政栄養士が、『地域における行政栄養士による健康づくり及び栄養・食生活の改善の基本指針』に基づいて、地域の健康づくりや栄養・食生活の改善に取り組む」としている。「食を通じた社会環境の整備の促進」として、「ヘルシーメニューの提供」,「地域の栄養ケア」,「食育ネットワークの構築として食育計画の策定、実施及び評価」などを示している。

疾病もいろいろあるが、食事や生活（運動、喫煙、飲酒等）に関連した疾病を生活習慣病（糖尿病、脳卒中、心臓病、脂質異常症、高血圧、肥満など（健康日本21より））と呼ぶ。これらの予防のためには「塩分・脂肪分の過剰摂取を控えつつ、野菜・果物の適切な摂取」が必要で、「栄養バランスがとれた食生活の実践」と「1日3食規則正しく食べる」を強調している。

「食生活の傾向」として、栄養素の摂取状況も解説されているので引用させていただく¹⁾。『日本型食生活』と言われる我が国の食生活は、米を主食としながら、主菜・副菜に加え、適度に牛乳・乳製品や果物が加わったバランスのとれたものであり、我が国を世界有数の長寿国にするのに大きく貢献した。しかしながら、近年、果物、魚介類の消費量が減少する一方、肉類の消費量は増大している。野菜・果物は、体重コントロールに重要な役割があるほか、循環器疾患・2型糖尿病の予防に効果があり、消化器系のがんにも予防的に働くとされている。魚介類は、良質なタンパク質、血管障害の予防やア

レルギー反応を抑止する作用があるDHA（ドコサヘキサエン酸）などの人の健康に有用な様々な成分を含んでいる。また、肉類は、乳製品とともに体をつくる源となる一方、結腸がん、乳がん等の危険因子であると言われている動物性脂肪を多く含んでいる。その一方、高血圧の原因なり、胃がんのリスク要因と言われている食塩の摂取量は、減少傾向にある」と述べている。

朝食についても解説しており¹⁾、「平成24年における朝食の欠食率は、男性12.8%、女性9.0%であり、10年前に比べて増加している。この割合は男女とも特に20代で最も高く、年齢を重ねるにつれて減少する傾向にある。朝食をとらず、1日の食事回数を少なくすると、肝臓での中性脂肪やコレステロール合成が増大する。1日のエネルギー摂取量を同じにしても、食事回数が少なくなるほど体脂肪の蓄積が増加し、血清コレステロールや中性脂肪が高くなり、肥満や脂質異常症の原因の一つとなる。たとえば、ダイエットのつもりで朝食を抜いたとしても、人の体は栄養不足を感じ、本能的に自身を守ろうとエネルギーを溜め込むため、痩せるどころか、かえって太りやすい体質になってしまうと言われている。そのため、朝食をきちんと摂取するなど、規則正しい食生活を送ることが健康にとって望ましい」と述べており、規則正しい食生活の励行を強調している。

2. 生命維持のための食事

「健康寿命」という言葉の認知度も30%程度と低く¹⁾、厚生労働白書で解説している食生活における重要なこれら事項も一般に認知されているとは言い難く、やさしく解説・周知する必要がある。

生化学を専門とする筆者の立場から、「食」を考えると、「エネルギー（ATP）の確保のため」と「成長や発達を含めた生命の維持に必要な体を構成する化学物質を取り込むため」とであると言えよう。このエネルギーは、体の中で起こっている化学反応を推進するためのエネルギーであり、体温を維持するためのエネル

ギーであり、体の中の物質（栄養素やイオン等）の組織間や細胞間、細胞内外の輸送に必要なエネルギーである。また、我々の体は、一度合成されるとずっとそのままではなく、酵素などいろいろな体の成分は、活動することによって傷つき機能が悪くなるので、生きている限り常に新しく合成され補充され続ける。細胞の全成分の入れ替わりを意味する新陳代謝である。入れ替わりの速い成分も遅い成分もあろうが約1年では全ての成分が入れ替わると言われている。このように体を形作っている成分（脂質、タンパク質、核酸、糖質など）は全て食事から摂取した化合物から合成されているのである。人が合成できない化合物は必須栄養素（必須脂肪酸、必須アミノ酸、ビタミン類など）としてそれら自体を体に取り込む必要がある。このように食事は、我々の体を維持するためには絶対におろそかにできない生命維持活動である。

このように片苦しく「食」のことを考えて生活している人はいないであろうが、美味しい料理をとることにより幸福感・満足感もえられる。食品産業が食品加工を行う場合、まず、摂取することにより満足感や幸福感がえられる食品であり、万人が美味しいと感じる食品でなければならない。そのために、食品（料理）を科学する場合、五感（味覚、視覚、聴覚、触覚、臭覚）全てとの関連性を常に念頭におくことにより、消費者の期待に答えられる成果がえられるに違いない。味覚に重きをおくことは正しいであろうが、視覚や臭覚的に不快なものは、消費してもらえないであろう。

3. 食物繊維の重要性

食事の取り方や生活の悪さによって、生活習慣病に罹患する人が出ることになる。前述の厚生労働白書¹⁾でも指摘しているように、食育や生活指導が大切である。「健康寿命の延伸」に貢献する活動が、食品産業に対しても期待されていることは、最近の健康関連食品（機能性食品）企業の活動の活発さからも推察される。

5大栄養素は「タンパク質、脂質、炭水化物

表1 食物繊維の効果

1	整腸効果
2	腸内細菌叢の改善
3	大腸がん予防効果
4	血糖値調節効果
5	血中脂質調節効果

「食品成分の機能と化学」³⁾より抜粋

（糖質）、ビタミン、ミネラル」である²⁾。これらは上記の通り生命維持活動やエネルギーの確保のために必要なものである。栄養素に分類されてはいないが、水と食物繊維も体にとって大切な成分であるとしている。

「水」は私たちの体の70%以上をしめるので必要であるが、「食物繊維」の重要性が近年認知されてきている。一般的な食物繊維の主な機能を表1に示した³⁾。

「おばあちゃん食」として、田舎で取れる根菜類や雑穀を主とする食事が健康に良いというのは迷信かもしれないが、今も日本食の食材として多く利用されている。この根菜類や雑穀に多く含まれる食物繊維は、健康を意図して摂取されていたとは言えないであろうが、食物繊維の機能性を考えると、この点では「おばあちゃん食」は健康に良かったのである。昔の日本食は、やはりタンパク質や脂質が少なく、これらの栄養素も積極的に摂取する必要があるが、結果的に昔の日本食からはたくさんの食物繊維がとれていた。ここではこれを「隠れ機能性」と言うことにする。食物繊維を積極的に摂取することは、好ましいことあることに疑いはないが、現在の食生活では難しいようである。

例えば、厚生労働省の「日本人の食事摂取基準（2015年版）の概要」⁴⁾によれば、この基準は「健康増進法」に基づき厚生労働大臣が定めるものとされ、国民の健康の保持・増進を図る上で摂取することが望ましいエネルギー及び栄養素の量の基準を示すものである」としている。食物繊維の基準も示されている（表2）。また、厚生労働省の国民健康栄養調査結果（概要）⁴⁾によれば、現在の食物繊維の摂取量も示されている（表2）。両者を比較すると、20歳

表2 食物繊維摂取基準と食物繊維摂取量

年齢	摂取基準 (g/1日)		年齢	摂取量 (g/1日)	
	男性	女性		男性	女性
6～7	11	10	1～6	8.7	8.5
8～9	12	12	7～14	13.7	12.9
10～11	13	13	15～19	14.1	12.3
12～14	17	16	20～29	13.0	11.8
15～17	19	17	30～39	13.2	12.7
18～29	20	18	40～49	13.6	12.8
30～49	20	18	50～59	14.8	14.8
50～69	20	18	60～69	16.5	16.4
70以上	19	17	70以上	17.1	15.7
			20以上平均	15.1	14.5

日本人の食事摂取基準（2015年版）の概要⁴⁾より抜粋

以上では男女ともに1日当たり4から5g不足していることになる。

4. はだか麦（もち麦）について

昨年10月に農研機構近畿中国四国農業センター主催による平成26年度中国四国地域マッチングフォーラム「“もち麦”人気を中心に新たな展開が期待される国産裸麦の生産と利用」と題する講演会・ポスター製品展示会・試食会が香川県高松市で開催され、大麦の機能性の研究者（大妻女子大学名誉教授池上氏）による大麦食物繊維の機能性、同農業センター研究者による品種育成、農業生産者グループ（篤農家）によるもち麦の生産状況・技法、大麦加工企業（(株)はくばく）による大麦関連食品の開発状況や要求される品質などに関する講演が行われた⁵⁾。このフォーラムで話題の中心となった化合物は『大麦食物繊維 大麦βグルカン』であり、この機能性に注目した商品も紹介された。各団体のご努力により、「焼きそば」、「はだか麦パン」、「ギャバごはんの素」、「雑穀米」、「うどん（乾麺）」、「甘酒」、「スイーツ（シフォンケーキ、どら焼き、かりんとう、クッキーなど）」、「5割麦ごはん」などの商品が開発され、既に販売されている⁵⁾。上述した通り、「美味しく食べる」という食事を通した幸福感・満足感を消費者に提供することができる商品であった。

保健機能性をもつ「βグルカン」を多く含む

ことから、「健康寿命を延伸できるので味は我慢——」では、その商品は市場では残れない。後でもう一度強調したいが、「自然にあるいは無意識に美味しく『隠れ機能性』の成分をとっていた！」という状況が必要なのである。食物繊維の機能性は認知されてきているが、なお一般に常識であるとは言い難く、「食物繊維を多く含む食品」を意識して摂取し続けることはなかなか難しい⁴⁾。炭酸飲料に食物繊維が加えられたものが、爆発的にヒットした。これは「コーラ」という炭酸飲料を飲みたいという欲求に、機能性がプラスされているので更に良いということであろう。

エネルギーを確保するための主食である『ご飯を食べたときに食物繊維もとれていた！』という状況が良いのではないだろうか。このフォーラムで紹介された「5割麦ごはん」は、「キラリモチ」というもち麦を奇麗に精麦した「米粒麦」という商品と「うるち米」を混合して炊飯したもので、食味も良く、更にたくさんの食物繊維(βグルカン)を摂取できる商品である⁵⁾。もち麦を使用しているために、昔の「麦飯」とは異なっていてモチモチ感があり美味しくいただける。このような商品は「自然に無意識に食物繊維を摂取する」ためには最適であろう。香川県は「うどん県」と名乗るように、うどんの消費が多い。うどんの主原料である小麦粉に大麦粉を配合して製造したうどん用乾麺も⁵⁾、上

のコンセプトと合致する。米飯に比べてパンの消費が著増しているようである。海外ではライ麦を原料とした黒パンも盛んに消費されているが、これも小麦パンに比べて食物繊維が豊富なパンである。はだか麦粉 80% の「はだか麦パン」も食物繊維を容易く摂取するための主食となりうる食品である⁵⁾。はだか麦（もち麦）の炭水化物（デンプン）を利用したこれら食品は、食物繊維の「隠れた機能性」をもっていることになり、無意識に美味しく無理なく摂取できる「食物繊維源」なのである。

5. 大麦（はだか麦）の胚乳の構造

では、大麦（はだか麦）のでんぷん質がなぜ食物繊維が多いかを概説したい。

麦類として、小麦、大麦、ライ麦、燕麦が広義の麦類であり、小麦と大麦が狭義の麦類と言われ、農林水産省のホームページには食用の麦類は、小麦、二条大麦、六条大麦、はだか麦の 4 種であるとしている。はだか麦は、「外見は六条大麦とほぼ一緒だが、穀粒の外皮が剥がれやすく、粒がハダカになるためこの名前がついた」とあり、主に味噌の原料となる。ただし、後 3 者は穂の形状や粒の大きさに違いはあるが同じ大麦類である。

大麦を含めて、穀類種子の胚乳には多数の仕切り（細胞壁）があり、それがデンプンを包んでいる。β グルカンを染色して顕微鏡観察をすると、大麦（はだか麦）の細胞壁は、小麦や燕麦（オートムギ）に比べて、厚く強固な構造である。その結果として大麦類種子が多く食物繊維を、特に β グルカン含有していることになる⁵⁾。この細胞壁の構造が大麦の粉に特殊な「機能性」をあたえている。

米の胚乳細胞壁の構造は、セルロース 20-30%、アラビノキシラン 50%、キシログリカン、ペクチン性多糖などであり、「大麦や小麦の胚乳の細胞壁の組成は米とは多に異なっているようで、キシログリカンやペクチン性多糖は含まれず、セルロース含量も低く、β グルカン含量が極めて高く、細胞壁含量自体も米よりも

表 3 大麦（はだか麦）粉と小麦粉の β グルカン含量

品種名	名称	β グルカン含量 (%)
チクゴイズミ	小麦	0.60
ユメサキボシ	二条大麦 裸	3.37
ハルヒメボシ (愛媛県奨励品種)	六条大麦 裸	4.13
ヒノデハダカ	六条大麦 裸	4.11

表 4 大麦食物繊維の効果

1	便秘解消
2	血中コレステロール濃度低下
3	食後血糖値の低下
4	メタボリックシンドロームの改善
5	免疫機能の向上、アレルギー低減
6	腸内細菌叢の改善
7	高血圧の改善

H26 年度中国四国地域マッチングフォーラム要旨集⁵⁾
より抜粋

ずっと多い」ことが示されている⁶⁾。筆者らが大麦粉や小麦粉について分析した β グルカン含量を表 3 に示した。このように大麦品種から調製した粉体は、非常に多くの β グルカンを含んでいる。

最後に「大麦の食物繊維（β グルカン）」の機能性を表 4 にまとめた⁵⁾。別に、筆者は本誌で「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」と題してはだか麦やもち麦の機能性についてご紹介もした^{7,8)}。大麦（はだか麦）は、水溶性食物繊維と不溶性食物繊維をほぼ同じ割合で含み、更に、その含量も特に高い。炭水化物（デンプン）供給源の中では、食物繊維含量の高い唯一の食材である。利用しないのはもったいないことだが、消費量も生産量も減少しているのが現状である。このような高機能性食材に対しては、「厚生労働省」と「農林水産省」の政策として、大麦（はだか麦やもち麦）生産農家やその加工企業に対して手厚い支援を実施するべき時期に来ていると考える。

おわりに

上述したフォーラムの内容で、特に興味深

かった事項を簡単にご紹介する⁵⁾。

- 1) 大麦を含む食事のグリセミックインデックス (GI 値) は 30 程度であり、かなり低く、糖尿病の予防効果をもつ。「大麦デンプンが硬い細胞壁に包まれているので消化され難いこと、 β グルカンが加熱により粘性が高まりデンプンの消化をゆっくりにするこ
- 2) 大麦にはセカンドミール効果があり、「朝食で大麦をとると、昼食の普通食でも食後の血糖値が抑えられること」が示された。
- 3) キラリモチ (もち麦) は、二条大麦のもち麦でありアミロースフリーでもあるが、収量性が低い。品種改良中の四国裸モチ 127 号は、 β グルカン含量が高く、四国裸モチ 129 号は、低アミロースで多収量である。関東裸モチ 94 号は β グルカン含量が極めて高く、2014 年に品種登録されるなど、もち性のはだか麦も品種改良されている。寒冷地用、低ポリフェノール品種 (白色種子) なども開発されている。
- 4) 米の価格が低下している現状では、麦作を

希望する農家が増加しているようである。「湿気を嫌う」特性があるが、産地の気候に適した品種を使えば、広い地域で裏作が可能であろう。

- 5) 大麦はアレルギー反応性が低い、収穫時あるいは加工時で、大豆や小麦、蕎麦などのアレルギーの原因になることが知られている食材の混入防止に心掛け、生産品の品質確保も重要である。

まとめると、はだか麦やもち麦などの大麦は、胚乳の細胞壁構造から、非常に多くの食物繊維 (主に β グルカン) をデンプン質に含有している。米や小麦のデンプンと混合して、美味しい食品が数多く開発できれば、健康機能性の高い「大麦食物繊維」を自然に無理なく摂取できるものと推察する。愛媛県ははだか麦生産量が 27 年連続日本一であった。しかし、生産量もその利用量も減少傾向にある。現在、筆者らのグループは愛媛県からの受託研究としてはだか麦の新しい利用方法について検討している。

参考文献

1. 厚生労働省, 厚生労働白書, 2014.
2. 農林水産省, <http://www.maff.go.jp/j/fs/diet/nutrition/>.
3. 山田 耕路, 食品成分の機能と化学. p.127, (株)アイピーシー, 2001.
4. 厚生労働省, 日本人の食事摂取基準 (2015 年度版) の概要. 2014.
5. 農研機構近畿中国四国農業研究センター, 平成 26 年度中国四国地域マッチングフォーラム講演要旨集, 高松, 2014.
6. 渋谷 直人, 米胚乳細胞壁の化学構造の品種間差とその遺伝解析. 日本醸造協会誌, **88**(12): 910-913, 1993.
7. 渡部 保夫, 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 1). *New Food Industry*, **55**(7): 36-43, 2013.
8. 渡部 保夫, 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). *New Food Industry*, **55**(8): 32-38, 2013.

“地域密着でキラリと光る企業”

上勝の棚田米と湧水と負けん気でこっしゃえた 純米吟醸原酒と米焼酎『株式会社高鉾建設 酒販事業部』

田形 暁作*

*TAGATA Yoshinari (TAGATA 食品企画・開発 代表)

Key Words : 四国・徳島県・上勝・地域活性型農商工連携・つまものビジネス・檜原の棚田・湧水

はじめに

徳島県上勝町は、徳島市中心部から車で約一時間程の場所に位置しており、人口は1,840名863世帯（平成25年10月1日現在）、高齢者比率が49.57%という、過疎化と高齢化が進む町である。しかし一方で、全国でも有数の地域活性型農商工連携のモデルとなっている町でもある。昭和56年2月に起きた寒波による主要産業の枯渇という未曾有の危機を乗り越え、葉っぱ（つまもの）を中心にした新しい地域資源を軸に地域ビジネスを展開し、20年近くにわたり農商工連携への取り組みを町ぐるみで行っている。

上勝町が新たな地域ビジネスを展開するようになった背景は1980年代の激動の時代を経験したからに他ならない。町の人口は年々減少し、主な産物であった木材や温州みかんは輸入自由化や産地間競争が激しく、伸び悩んでいた。1981年には局地的な異常寒波が上勝を襲い、ほとんどのみかんが枯死。一年間でみかんの売上は約半分となり、農業は大打撃を受けた。この歴史的な大災害を乗り越えるため、軽量野菜を中心に栽培品目を増やし、農業再編成に成功。続いて季節的要因の少ない椎茸に注目し、現在の年間売上約5億円と、成功を収めている。さらに、町の半数近くを占め

るお年寄りが活躍できるビジネスはないかと模索したところ、“つまものビジネス”＝“葉っぱビジネス”が1986年にスタートした。後に映画「人生いろいろ」が完成し、上映された。（詳細は後述）

株式会社高鉾建設は上勝町で建設会社を営んでいる。建設会社がなぜお酒を販売することになったかという、高齢化と過疎の進む上勝町で上勝の棚田を守る者も少なくなってきた。そんななかで会社として、自分たちに「何かできないか」と思った時に「酒販事業部」と「農業部」をつくり（平成23年度より）、この上勝町の「棚田」で自然の恵みをいっぱいけたお米を作って、お酒にして売ろうと考えた。上勝町は、おじいちゃん、おばあちゃんがいきいきと働く姿が他県から移住してきた者もとても新鮮で印象的で、自然豊かな日本の原風景がのこっている町である。是非、徳島県上勝町の魅力と弊社のお酒をたくさんの人に知ってほしい。そんな熱い思いを胸に社員一同、日々精進している。

1. 世界が注目する上勝町の「葉っぱビジネス」

「葉っぱビジネス」とは“つまもの”つまり日本料理を美しく彩る季節の葉や花、山菜な

どを、栽培・出荷・販売する農業ビジネスのことである。当時農協職員だった横石知二(現・株式会社いろどり代表取締役社長)が、「彩(いろどり)」と名づけて1987年にスタートした。現在つまものの種類は320以上あり、一年を通して様々な葉っぱを出荷している。

●通常商品



南天



青もみじ



葉っぱき



松葉

●敷き葉商品



ささ



はすいも葉



ほう葉



青もみじ(ジャンボ)



ささ(ジャンボ)



南天(ジャンボ)

葉っぱビジネスのポイントは、商品が軽量で綺麗であり、女性や高齢者でも取り組めることである。現在の年商は2億6,000万円。中には、年収1,000万円を稼ぐおばあちゃんもいる。それを支えるのはパソコンやタブレット端末で見る「上勝情報ネットワーク」からの情報である。決まった数量を毎日出荷するのではない。おばあちゃん達はパソコンやタブレット端末を駆使し、「上勝情報ネットワーク」から入る全国の市場情報を分析して自らマーケティングを行い、栽培した葉っぱを全国に出荷する。「上勝情報ネットワーク」では自分が町彩部会で何番目の売上を上げているかの順位が分かるようになっているなど、農家さんのやる気を出させる“ツボ”をついた情報を提供している。いろどりは「上勝情報ネットワーク」を通じた農家への情報発信を行っている。

葉っぱビジネスの成功により高齢者や女性達に仕事ができたと出番と役割ができ、元気になり、町の雰囲気も明るくなった。「葉っぱビジネス」の仕事が忙しくなってきたため、



老人ホームの利用者数が少なくなってきた。「忙しゅうて、病気になっとれんわ!」というおばあちゃんもいらっしゃる。「葉っぱビジネス」が、2012年秋映画『人生、いろどり』になった。全国15万の方が来場され、まだまだ全国でホール上映が続いている。話題性もあり、来町者の数や、葉っぱの販売数も伸びた。2013年12月25日にはDVDの販売も開始した。

また、現在弊社では上勝町から委託を受けて、上勝町の移住・交流人口の増加、町のファンづくりを目的としたインターンシップ事業を行っている。町内で農業や企業の体験、ボランティア活動などを通じて町のことを知ってもらい取り組みである。毎年たくさんの若者が町を訪れており、2010年8月から2013年11月現在で500名近くを受入れし、約20名が町内に移り住んだ。また、その中には上勝町で起業し、新しいビジネスを始めた方もいる。高齢の農家さんが若者達と接することで元気になり、インターンシップ研修生が来ることを楽しみにされている。

2. 株式会社高鉾建設 酒販事業部

上勝は、徳島県中部の山間にある人口二千人足らずの小さな町。おばあちゃんの葉っぱビジネス「彩」や「山びこポイント」の方が有名かもしれない。上勝の魅力は、なんといっ



檜原の棚田

ても日本の原風景のような美しい自然である。日本の棚田百選に選定された「檜原の棚田」もその一つ。

一方、ここも全国のふるさとと同様に年々過疎化が進み、棚田を維持管理する人出も経費もままならないのが現状である。株式会社高鉾建設 代表取締役社長の山下俊洋氏はこの町で生まれ、今ここで骨を埋めるつもりで建築業を営んでおられる。棚田の景観をこの先もずっと守っていききたい、上勝をもっと元気にしたい、そんな思いを強く持ってこの事業を新たにスタートさせた。この取り組みを通じて、棚田の保存、農業後継者の育成、上勝の活性化に微力ながら貢献できたらと考えておられる。

精魂こめて作った棚田米と美しい水、そして負けん気で作ったこの酒を呑みつつ、遠

いふるさとのことを、そして上勝のことを思い浮かべて頂くことを希望しておられる。上勝棚田米の酒づくりは、創業二百余年の歴史を持つ、地元徳島の老舗酒蔵「本家 松浦酒造場」の協力のもと実現した。無垢な自然のなか、手塩にかけ育まれた棚田米の旨み、一滴一滴が放つピュアで豊潤な香りを、お楽しみいただきたい。

●会社概要



上勝棚田米のお酒



株式会社高鉾建設

店 舗 名 株式会社高鉾建設 酒販事業部
 代表取締役 山下俊洋
 所 在 地 〒771-4504 徳島県勝浦郡上勝町
 大字傍示字西峯 146 番 4
 電 話 番 号 0885-44-1388
 FAX 番 号 0885-44-5388
 営 業 時 間 9:00 ~ 17:00
 定 休 日 日曜
 業 務 内 容 地酒・焼酎の製造、販売・通販



3. 商品紹介



「上勝の棚田米と湧水と負けん気でこっしゃえた」純米吟醸原酒純米吟醸原酒（720ml）

- ・アルコール度数：16 度
- ・原材料名：米（徳島県上勝町産米）、米麴（徳島県上勝町産米）
- ・口当たりの良いフルーティな香味が特徴
- ・とても飲みやすく女性にも人気
- ・ワイン感覚で飲める

「上勝の棚田米と負けん気でこっしゃえた」米焼酎・冷酒がおすすめ米焼酎（720ml）

- ・アルコール度：25 度
- ・原材料名：米（徳島県上勝町産米）、米麴（徳島県上勝町産米）
- ・まろやかでスッキリとした味わい
- ・お米の芳ばしい香り
- ・癖がないのでどんな料理にも合う
- ・ロック、水割り、お湯割り、どのように飲んでも美味しい

射手座造船所 純米吟醸原酒 720ml

現在、限定ラベルとして「日比野克彦」氏デザインの射手座造船所 純米吟醸原酒。

涼やかなブルーのボトルとすっきりとした



味わいが特長。

射手座造船所とは徳島県上勝町傍示地区に設置されてある日比野克彦氏のアート作品である。この作品は「第22回国民文化祭とくしま2007」上勝アートプロジェクトに於いて地元の杉の木を使い、傍示の人々の手によって作られた。現在は、主に徳島県内を中心に販売を行っている。また、通信販売も行っている。



【ギフト】



<ギフトセット2
本組み合わせ>

上勝の棚田米と
湧水と負けん気で
こっしゃえた純米
吟醸原酒 / 米焼酎
720ml

<ギフトセット3本組み合わせ>



上勝の棚田米
と湧水と負けん
気でこっしゃえ
た純米吟醸原酒
2本 / 米焼酎1本
720ml

4. 上勝町の人口推移

●人口推移

1970年	4,057人
1975年	3,587人
1980年	2,918人
1985年	2,712人
1990年	2,450人
1995年	2,318人
2000年	2,124人
2005年	1,955人
2010年	1,784人

総務省統計局 国勢調査より

全国の地方自治体

は、この過疎化・高齢化の流れを食い止めるべく、さまざまな地域再生活動に取りくんでいる。しかし、平成の市町村合併など、近年の政策により、特に山間部や離島など交通が

●年齢別男女構成比

年齢層	男	女	計	構成比 (%)
80～	154	250	404	22
75～79	84	112	196	11
70～74	86	98	184	10
65～69	72	64	136	7
60～64	74	71	145	8
55～59	40	44	84	5
50～54	48	46	94	5
45～49	47	36	83	4
40～44	43	37	80	4
35～39	40	34	74	4
30～34	28	32	60	3
25～29	33	36	69	4
20～24	35	22	57	3
15～19	28	21	49	3
10～14	27	27	54	3
5～9	29	23	52	3
0～4	20	25	45	2
計	888	978	1866	100

(H25.3.31 現在)

不便である地域はますます衰退しているのが実情である。このような地域は、下りエスカレーターに乗ったかのように緩やかであるものの、確実に衰退の一途を辿り、果ては消滅する恐れがある限界集落となる可能性を持つ。徳島県上勝町は、このような厳しい情勢の中、葉っぱビジネスの成功で有名になった。上勝町は、徳島の山間部に位置し、高い山と深い谷に囲まれた小さな町である。

人口は、昭和30年の6,265人を境に減少し続け、平成23年3月31日現在、1,904名となっている。65歳以上の高齢者比率は50%となっており、全国平均23%を大幅に上回っている。このように、上勝町では、過疎化と高齢化が同時に進行している。しかし、平均年齢70歳のおばあちゃんたちが山に落ちている葉っぱを集めて販売するという葉っぱビジネスを展開し、2011年現在、葉っぱビジネス全体としての売上高は約2.6億円に達している。なかには月収200万円、年収1,000万にも達するという、驚くべきおばあちゃんもいる。このため、過疎地域の地域再生活動のユニークな成功事例として全国から注目されている。その夢のような地域再生活動を展開している地域でさえ、過疎化・高齢化の流れを止めることが難しいようである。

おわりに

最も人口が少ない徳島県上勝町はユニーク

な葉っぱビジネスで全国的に有名である。このビジネスは現在の地方の過疎化・高齢化の問題を解決するかのような話題性があるので、映画になった。『人生、いろどり』である。出演者は名女優の吉行和子、富司純子、中尾ミエの3名に、株式会社いろりの社長が若い時の役を平岡祐太が演じている。この映画の御蔭でさらに葉っぱビジネスは大きく花開いた。65歳以上の人口が約50%であるが、葉っぱビジネスに生きがいを感じておられるようである。また、株式会社高鉾建設は社長の山下氏が生まれ育った町の棚田が消える事を危惧され、棚田を生かす事業として酒を製造販売することを思いつかれ社員一同、棚田での米作りから始め純米吟醸原酒や米焼酎を製造販売されている。

商品のキャッチコピーは「上勝の棚田米と湧水と負けん気でこっしゃえた純米吟醸原酒、米焼酎」であり、意気込みが感じられる。他にも、新たな事業起こしがされており、益々、発展するであろうが、高齢化と人口減少の問題は解決されているとは考えにくい。若い人が新たに定住するような事業起こしと環境作りが必要なようである。

この問題は全国的な課題である。上勝町を愛する人たちと事業起こしの知恵者がおられるように感じられる。是非とも、高齢化・過疎化を食い止める全国のモデルをつくりあげていただきたい。



「漬物塩嘉言」小田原屋主人

宮尾 茂雄
(東京家政大学)

「漬物塩嘉言」との出会い

「漬物塩嘉言」は天保7年(1836年)に出版された漬物の料理本である。瓜、茄子、とうがらし、大根、紫蘇の実、生姜などを醬(ひしお)に漬けた「家多良漬(やたらづけ)」や甘く塩押した茄子に白砂糖を加え辛子醤油で漬けこんだ「初夢漬」など64種類の漬物が載っている^{1, 2)}。漬物問屋小田原屋主人の語りを「好食外史」と名のる人物が文章に起こしたと記されている。

現在、私の手元には二冊の「漬物塩嘉言」がある(写真1)。1冊は、愛知県蟹江で(株)若菜として漬物業を営んでおられた故山田清三氏からいただいたもので、表紙に『漬物早指南 全』と和紙に書かれた張り紙があり、赤い地紙の中表紙に『小田原屋主人著(神田漬物問屋の印)漬物塩嘉言一名漬物早指南』と記されている(写真2)。明治36年に発行された博文館版である¹⁾。(株)若菜は東京銀座にも店があり、山田氏は上京された折に神田神保町の古書店を見て廻るのが楽しみだったそうだ。リュックサックいっぱい本を詰め込んで帰られる姿が忘れられないとご家族から伺ったことがある。

もう一冊は京都の古書店尚学堂で出会った。表紙には表題の記載がなく、いきなり「序」から始まっている。裏見返しを見ると天保7年の初版本だった²⁾。「漬物塩嘉言」は他にも活版印刷の明治19年(1886年)発行の半月堂版などがあり、これは国立国会図書館近代化デジタルライブラリーで閲覧できる。また、江原絢子氏の現代語訳も出版されている³⁾。私も以前、現代語訳簡略

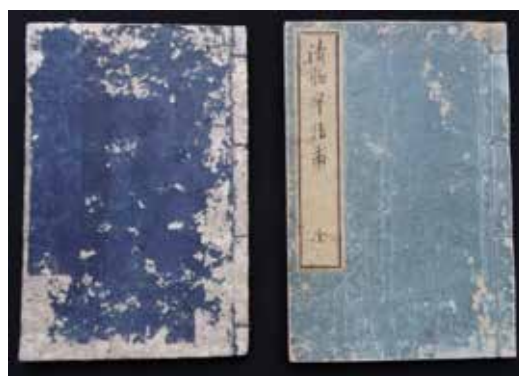


写真1 漬物塩嘉言 天保版(左), 明治38年版(右)
(宮尾所蔵)



写真2 赤の中表紙(漬物塩嘉言 明治版)「神田漬物問屋」の印がある。



写真3 大根干しの図（漬物塩嘉言 天保版挿絵）

小田原屋主人

江戸時代後半になると、町民生活の向上に伴い、食品を商う店や飲食店、料理屋が増加し、繁盛した。文政5年（1822年）から天保6年（1835年）にかけて江戸で評判の高級料理屋、八百善主人が著した「江戸流行料理通」が出版されるなど、料理本の出版ブームだった。「料理通」には四季折々の香の物が登場するが、漬け方などは載っていない。

「同じ香の物でも専門家の作り方はどこか違いがあるのだろう。」「料理通にでている漬物を自分でも作りたい。」「漬物塩嘉言」はそんな要望に答えて出版されたのだろう。江原絢子氏も指摘しているように、書肆（しよし・版元）の岡田嘉七と和泉屋市兵衛は「漬物塩嘉言」と「料理通」に共通する人物で、二つの料理本の出版には関連性がある³⁾。

「漬物塩嘉言」の登場は、それまで保存漬、箸休めと思われていた漬物が、味覚や見た目、季節感という新たな魅力をもつ存在と見られるようになったターニングポイントであったと私は思っている。全編漬物だけという、画期的な書物の著者である小田原屋主人とはどのような人物だったのだろうか。「小田原屋主人著」とあるだけで、本を手にした誰もがわかるような有名人だったのだろうか。明治36年に出版された博文館版には「神田漬物問屋」と印刷されていることから、小田原屋は江戸時代から続く神田市場と密接な関連があるものと思われた。

恩師の小川敏男先生は「江戸町中喰物重法記」（天明7年（1787年））⁵⁾を読まれて「かうじ町の漬物問屋 小田原屋吉兵衛」⁶⁾が「漬物塩嘉言」の著者、小田原屋主人ではないかと考えておられたようだ。「江戸町中喰物重法記」は携帯に便利な小型本で、食料品商や菓子屋、飲食店などが載った江戸のグルメガイドといった趣のある本である。当時の人はこれを懐に入れて、江戸の町の食べ歩きを楽しんでいたのだろう。香の物屋の項では、

版を作成したことがある⁴⁾。「漬物塩嘉言」は天保7年の発売以来今日まで続くロングセラーの料理本ということになりそうだ。

尚学堂で「漬物塩嘉言」に出会った時のことは忘れられない。古書店、茶舗、古道具屋などが集まる寺町界隈の散策は、京都を訪れた時の楽しみの一つとなっている。いつものように、店の主人に「何か面白いものはありますか?」と尋ねたところ、「こんなものがあります」と奥から取り出して見せてくれたのが、「漬物塩嘉言」であった（写真3）。

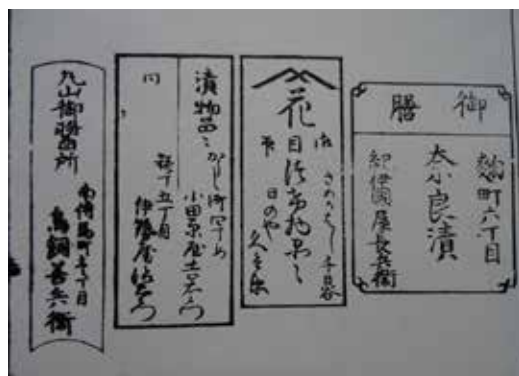


写真4 漬物品々 こうじ町四丁目 小田原屋吉右衛門（江戸町中喰物重法記）（国立国会図書館所蔵）

『瀬戸物町南側 富士田屋佐七
 麴町六丁目 紀伊國屋長兵衛
 さめがはし千日谷 日のや久兵衛
 かうじ町四丁目 小田原屋吉右衛門
 糍丁五丁目 伊勢屋治右衛門
 麻布出店糍丁二丁目 青柳堂
 本店麻布雑式町出店新橋南鍋町 三河屋正種製』
 などが載っている（写真4）。しかしさらに詳細にみると、
 このほかにも江戸市中の漬物商の記載があり、
 『芝三崎町 文字屋
 神田連雀町 小田原屋吉右衛門
 糍丁一丁目 きいの国や平六』

の名前が並んでいる（写真5）。小川先生が、漬物塩嘉言の
 著者「小田原屋主人」を「神田連雀町 小田原屋吉右衛門」
 ではなく、「かうじ町 小田原屋吉兵衛」と推測されたのは、
 どのような理由からだったのだろうか。

「江戸買物獨案内（いろは仮名引）」は文政7年（1824年）に出版された江戸市内の買い物案内
 であり、飲食関連以外にも商店約2600店を紹介するガイドブックである⁷⁾。これも携帯に便利な
 小型本だが、上・下巻・飲食之部の3冊に分かれている。下巻「味噌問屋」の項に

『神田連雀町 小田屋吉右衛門 味噌問屋・漬物類』
 とある（写真6）。他にもいくつもの漬物商が載っていたが、「小田原屋」の屋号をもつ漬物商は見
 当たらなかった。

「江戸商家・商人名データ総覧」から「小田原屋」という屋号の商家を探してみた⁸⁾。「小田原屋」
 という屋号は小田原に居城を構えていた北条氏が豊臣秀吉に追われて江戸に逃亡して来たことに由
 来があるともいわれており、江戸の町には何軒もの「小田原屋」があった。このうち「漬物」に関
 連した商家は、『室町二丁目、両替商、漬物渡世小田原屋佐七』と『神田連雀町、味噌問屋漬物類
 小田原屋吉右衛門』の二軒であった。連雀町の「小田原屋吉右衛門」の最も古い記録は文化10年（1813

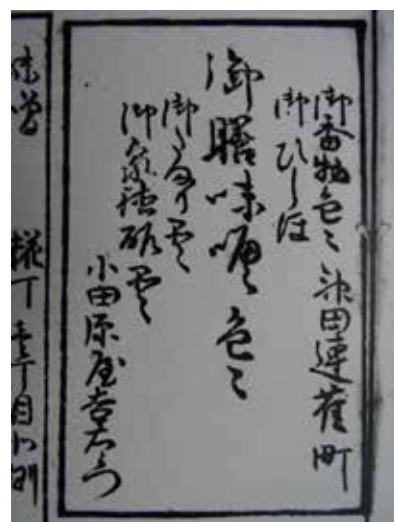


写真5 御香物色々 神田連雀町 小田原屋吉右衛門（江戸町中喰物重法記）（国立国会図書館所蔵）



写真6 神田連雀町 味噌問屋 漬物類 小田屋吉右衛門（江戸買物獨案内）（神戸大学附属図書館所蔵）

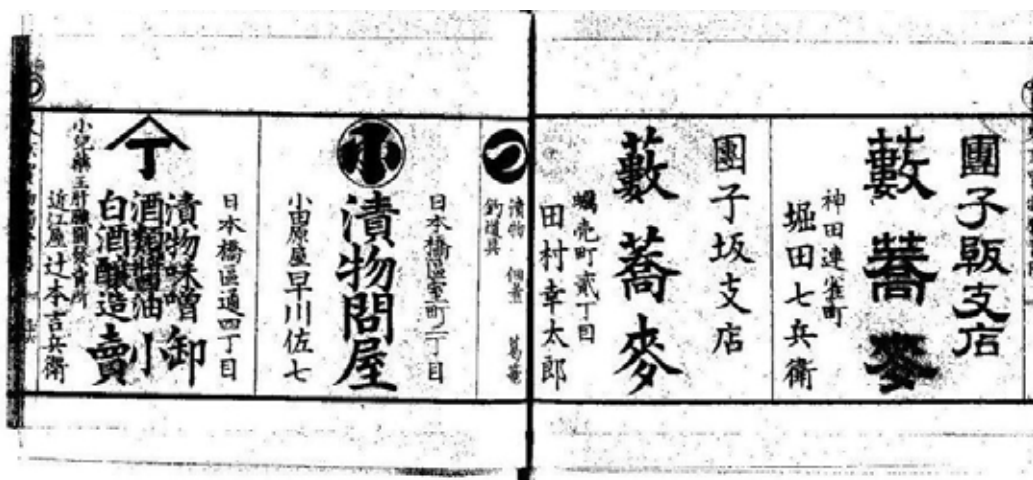


写真7 日本橋室町 漬物問屋 小田原屋早川佐七（東京買物獨案内）（国立国会図書館所蔵）

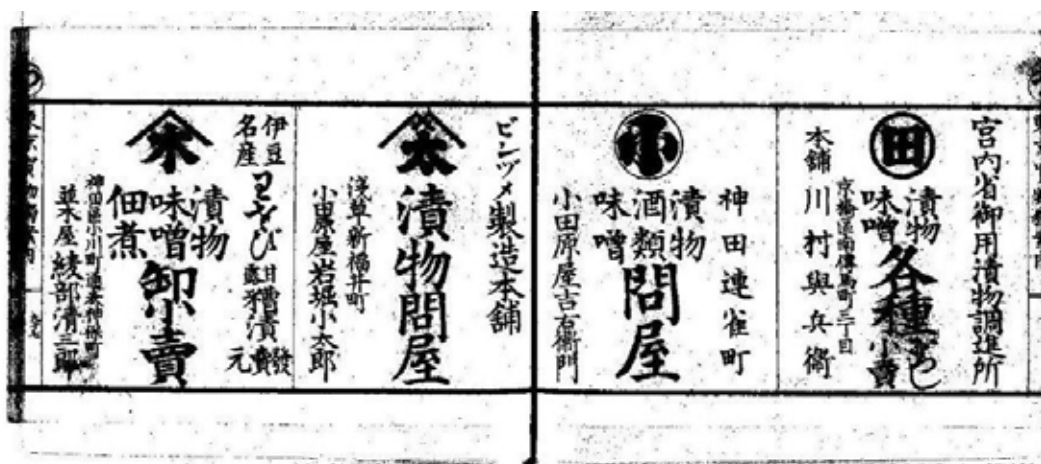


写真8 神田連雀町 漬物問屋 小田原屋吉右衛門（東京買物獨案内）（国立国会図書館所蔵）

年）で「御用金納」とある。他にも家持とあり、両替屋を営む裕福な商人だったようだ⁸⁾。

明治23年（1890年）発行の「東京買物獨案内」⁹⁾には6軒の漬物商が載っている。「小田原屋」の屋号の店は、「日本橋室町 漬物問屋小田原屋早川佐七」（写真7）、「神田連雀町漬物・酒類・味噌問屋小田原屋吉右衛門」（写真8）、「ビンヅメ製造本舗 漬物問屋 浅草新橋井町 小田原屋岩堀小太郎」の3軒であった⁹⁾。小田原屋の暖簾印（商標）は「○小（まるこ）」であり、「漬物塩嘉言」の著者「神田漬物問屋」小田原屋主人は、神田連雀町にある江戸時代から続く漬物商「小田原屋」と強い繋がりがあるのではないかと思うようになった。

ここで、「江戸買物獨案内」⁷⁾に載っていた「神田連雀町 小田屋吉右衛門」であるが、暖簾印が小田原屋と同じ「○小」であること、「江戸商家・商人人名データ総覧」⁸⁾では、「江戸買物獨案内」からの引用が1ヵ所しかないことから、「小田原屋」を「小田屋」と誤記した可能性がある。もちろん、今から200年近く前の出版物であり、根拠を正すことはできない。当時としては画期的な買物ガイドブックであるが、江戸市中の莫大な数の商店をどの程度どのようにに収載するか、多くの記載漏れも後で次々と判明しており、成立時にはかなりの混乱もあったようだ¹⁰⁾。収録された商店は2622

軒に及ぶが、当然載っているはずの本店「小田原屋」が抜け落ちてしまった可能性もあるかも知れない。

くらおばあちゃんの昔ばなし

「小田原屋」に関する情報を探していた時、インターネット上で「おばあちゃんの昔ばなし（神田市場の話）～松尾神社と神田多町市場～」というタイトルで、『代々神田市場で仲卸しを生業とされていた「くら」おばあちゃんに多町二丁目の昔話を語っていただきました。』という記事を見つけた。

くらおばあちゃんは大正6年生まれ（88歳）で屋号を「三幸」という蓮根やクワイなどを扱う蓮間屋を営んでいた。くらおばあちゃんの昔話の中の「味噌、酒、醤油、漬物などを扱う『連雀町の小田原屋』は江戸で一番古い商人じゃないかって言い伝えがある」というところに目が止まった。「連雀町の小田原屋」は、今もあるのだろうか？そこで、聞き手のお一人である滝口さん（千代田区四番町歴史民俗資料館職員、現在千代田区日比谷図書文化館）に、小田原屋のことを伺ったところ、多町二丁目の立山さんを紹介してくださった。立山さんからは、現在、須田町に㈱小田原屋小栗商店のマルコビルという建物があるので、直接連絡をとったらどうかと教えていただいた。

神田連雀町・多町界隈を歩く

現在の㈱小田原屋小栗商店は江戸時代から続く『神田連雀町漬物・酒類・味噌問屋小田原屋吉右衛門』と関係があるのだろうか。また、「漬物塩嘉言」の著者、小田原屋主人と神田連雀町の『小田原屋』には繋がりがあるのだろうか。そこで、土曜日の午後、神田万世橋から神田青物市場跡、マルコビルの周辺を散策してみることにした。

JR 秋葉原駅を出るとすぐに昭和5年に出来た石造りの万世橋がある（写真9）。橋の下を流れる神田川的位置は江戸時代と大きく相違しないが、当時万世橋はなく、昌平橋（写真10）との間には筋違橋があった。日本橋方面から来て筋違橋を渡ると、須田町、連雀町、多町（たちょう）、佐柄木町など5町15,000坪（約49,500㎡）におよぶ青物市場が広がっていた（写真11）。神田青物市場の起源は慶長年間に現在の須田町1丁目界隈で開かれた青物市にあるといわれている（写真12）。徳川家康が江戸城に移った頃の江戸は、荒れた田舎城を取巻く遠浅の海辺と田園という景観であったという¹¹⁾。城下町の建設は道路や水路など交通網の整備に重点が置かれ、日本橋を中心とした



写真9 万世橋（昭和5年完成）



写真10 神田川、万世橋より上流の昌平橋を望む。
この間に筋違橋があったと思われる。



写真 11 安政(1856)年頃の連雀町，筋違御門界隈（千代田区設置板）

となった¹¹⁾。

神田周辺は江戸でも古い町の一つで，日本橋が商人の町であるのに対して，職人町と言われていた¹⁰⁾。雉子町（木地師），新銀町（脇両替商），連雀町（連尺，物を背負う時に用いる荷縄や背負子を作る職人）などの町名がその生業を表していた。

「神田市場史」¹¹⁾によれば，市場内の漬物商のルーツには2つあり，一つは自分で製造して，それを持ち込み市場内に場所を借りて販売する者，もう一つは自家生産と同時に各地から漬物を取り寄せ，小売や行商（ぼてぶり）などに販売する者であった。守貞謄稿¹²⁾によると，



写真 13 マルコビルの木製看板「小田原屋本店」



写真 12 青物市場発祥乃碑
（千代田区須田町 1-8）

五街道と市中の幹線道路網が造られた。そのなかで，筋違橋は中山道と江戸城を結ぶ幹線道路であり，人馬の往来も賑やかな交通の要所



写真 14 マルコビル玄関のガラス戸，
小田原屋の商標「○小」

江戸では天秤棒を担いで「漬物」を売り歩く行商が多かった。店を構えた漬物商は漬物類の他に煮豆などの惣菜類、青物類、味噌、寺納豆なども商っていた^{7, 12)}。

神田連雀町（現在は東京都千代田区神田須田町1丁目）にある(株)小田原屋小栗商店のあるマルコビルは表通りを1本入ったところにある白い大きな建物である。マルコビルの正面2階には、ガラスカバーで保護された「小田原屋本店」の木製看板が掲げられていた（写真13）。ガラスドア（写真14）とビルの屋上には江戸買物獨案内の『小田（原）屋吉右衛門』と全く同じ「○小」の商標が付いていた。これには大変驚愕した。この時点で、江戸時代の『神田連雀町小田（原）屋吉右衛門』と現在の(株)小田原屋小栗商店には強い繋がりがあると思った。そこで、現在の店主である小栗忠さんに今までのいきさつを説明したところ、貴重なお話を伺うことができた。

小栗 忠さんのお話

小栗さんのお話によると小田原屋の創業は天正年間（1573～1591年）で、1945年の終戦まで漬物問屋をしていたという。その後、平成12年まで酒類を中心に食料品店を営んでいたが、現在は貸しビル業（マルコビル）を行っている。

マルコビル1階の事務所には「天正年間創業 萬漬物 小田原屋本店」の看板（写真15）が残されていた。店を新築した昭和3年に表の看板と同時に作ったそう。天正年間といえば戦国時代も終盤になり、1590年（天正18年）に豊臣秀吉が小田原城を攻略し、戦に敗れた北条氏直（1562～1591年）は徳川家康を頼って江戸に逃げたとされている。

小栗さんは、豊臣秀吉の小田原城攻めで小栗氏の先祖が北条氏直の娘を連れて江戸に逃れて「小田原屋」という名で商売を始めたという話を祖父から聞いたことがあるそう。小田原屋は初代から10代までは漬物を主に扱っており、11代目からは酒も扱うようになったことは聞いてい



写真15 「天正年間創業 萬漬物 小田原屋本店」の看板（マルコビル）



写真16 昭和3年再建された小田原屋本店（小栗氏所蔵）



写真17 東京漬物業組合の鑑札（木札）がみえる（小田原屋本店店内）（小栗氏所蔵）



写真 18 角樽が並ぶ（小田原屋本店店内）（小栗氏所蔵）

るが、ご先祖が本を書いていたという話は昔のことだし、分らない。」というお答えだった。また、麹町の「小田原屋」は知らないとのことだった。

建物を取り壊す前の昭和 63 年頃の小田原屋の写真をお持ちだったので見せていただいた（写真 16）。一

枚の写真に「東京漬物業組合」の木製の会員証（写真 17）が写っていたので、漬物に関連した思い出があるかどうか伺ったところ、小栗さんの幼少の頃は、「酒屋が主で、漬物組合の木札は残っていたが、製造などはしていなかった。」という。ただ、「戦前までは漬物を製造していた。」とも聞いているとのことだった。昭和 2 年発行の「全国有名漬物食料品店籍調」をみると「連雀町 小栗寅雄」の名前が載っていた¹³⁾。小栗寅雄さんは小田原屋 15 代目にあたり、現在の小栗さんは 17 代目になるそうだ。酒屋さんらしい朱塗りの角樽がならび（写真 18）、「小田原屋本店」と掲げられた立派な看板と店構えのお店の前に立つご両親と忠さんのお写真も見せて頂いた（写真 19）。帰りにマルコビルの玄関で小栗さんと一緒に写真を撮らせていただいた（写真 20）。

神田明神（写真 21）に 1 対の大きな狛犬がある（写真 22）。この狛犬は当時の神田市場の有力者 8 人によって寄贈された（昭和 8 年 5 月）ものである。狛犬の台座には寄贈者の名前が刻まれて



写真 19 お店の前の小栗忠氏（左）とご両親（小栗氏所蔵）



写真 20 マルコビル玄関前で小栗忠氏（左）



写真 21 神田明神御神殿（昭和 9 年竣工）



写真 22 一対の狛犬, 正面を向く狛犬は珍しい (神田明神)

おり, このなかに「神田区連雀町 小栗兆兵衛」,「神田区連雀町 小栗寅雄」の名が並んでいた。小栗兆兵衛は祖父の弟にあたり, 連雀町1丁目で食料品商を営んでいたそう¹¹⁾。

小栗さんから多くの話を伺った帰り道, 旧神田市場の鎮守松尾神社にお参りした (写真 23)。ご近所の方のお話では太平洋戦争の時は, ニコライ堂が近くにあったせいか, 米軍による爆撃を免れ, 多町, 佐柄木町, 連雀町など旧神田市場周辺は, 運よく焼けなかったという。多町大通りには関東大震災の教訓を生かして建てられた戦災復興町屋 (写真 24) や銅板仕上げの装飾のついた看板建築が残り, 周辺には昭和初期に建てられ, 東京都選定歴史的建物に指定されている甘味処や料理屋, 蕎麦屋などが残っている。今後, 再開発が進み町はその姿を変えていくことだろう。マルコビルに小田原屋の木製看板と暖簾印 (商標) がなければ, 私には江戸時代から連綿と続く老舗だとは気が付かなかった。小栗さんが代々の小田原屋の看板を大切にされているおかげだと思った。

小田原屋主人は「漬物塩嘉言」の中で, 江戸だけではなく紀州和歌山特産の漬物の紹介など各地の材料や手の込んだ漬物, 梅の花や松茸などの漬け置き法など 64 品を紹介している。取り扱い品目が多彩で商品知識が豊富, 目新しい情報の収集にも熱心な漬物問屋だったのだろう。しかも「小田原屋」というだけで知名度のある大店, 茶室で漬物の秘伝を語る文化人, いったいどんな人物だったのだろうか。「小田原屋主人」が小栗さんのご先祖であり, 何代目かの小田原屋吉右衛門であると思わずにはおられなかった。時代が過ぎて明治の世の中になり, 漬物問屋の数も多くなるなかで, 「小田原屋主人」だけでは分りにくいので, 明治 36 年発行の博文館版「漬物塩嘉言」ではあえて「神田漬物問屋」と註釈をいれるようになったのではないだろうか。



写真 23 神田市場, 多町市場の鎮守松尾神社



写真 24 多町大通りに面した松木家 (元多町市場青果問屋の店舗兼住宅)



写真 25 漬物塩嘉言 天保 7 年版（国立国会図書館所蔵）

それにしても二冊の「漬物塩嘉言」が手元にあったおかげで、「小田原屋主人」から神田連雀町の「小田原屋小栗商店」にまで行き着くことができた。古書との出会い、人との出会いとは不思議なものである。私はそのような機会に恵まれたことに心から感謝している。

以上の原稿をまとめ上げた後、別件で国立国会図書館の蔵書を調べていた際に、同図書館にも「漬物塩嘉言」の天保 7 年の初版本があることがわかった。同図書館のデジタルコレクションで公開されている「漬物塩嘉言」を見ると、私が所蔵していた「漬物塩嘉言」の初版本には無かった青色の地紙の中表紙があり、そこには明治 36 年に発行された博文館版の赤い中表紙に書かれていた『小田原屋主人著（神田漬物問屋の印）漬物塩嘉言一名漬物早指南』と全く同じ内容が記されていた（写真 25）。これには全く驚いた。

私が古本屋で入手した初版本はいつの頃かわからないが、何かの事情で中表紙が欠けていたのである。その結果、小栗さんに結びつくまでには多くの時間を費やした。しかし、初版本にも「神田漬物問屋の印」があったお陰で、「漬物塩嘉言」の著者である小田原屋主人は、小田原屋の何代目かの当主小田原屋吉右衛門であり、小栗さんのご先祖であること、小田原屋は天正年間から終戦まで続いた漬物商であったことを確信するに至った。歴史学者からは実証的な史料に乏しいとお叱りがあるかもしれないが・・・。「小田原屋主人」を知りたい思いから随分と遠回りをしたが、実に楽しい遠回りであった。

謝辞

何度もお話にお付き合いしていただき、また漬物塩嘉言の小田原屋主人との繋がりが知りたい思

いから、同じような質問を繰り返す中で、丁寧に対応して下さった小栗忠様に心から感謝申し上げます。写真 16～19 は小栗忠様のご許可をいただき、掲載させていただきました。また、古書のなかの「小田原屋吉右衛門」のくずし字の判読などについてご教示いただきました大学共同利用機関法人人間文化研究機構国文学資料館 西村慎太郎先生に感謝申し上げます。

参考資料

- 1) 小田原屋主人：(神田漬物問屋の印)『漬物早指南 全』奥付『明治三十六年八月求版発行 定価金十二銭，発行兼印刷者東京日本橋区本町三丁目八番地 大橋新太郎 発行元東京日本橋区本町三丁目八番地博文館』（明治 36 年）
- 2) 小田原屋主人：『漬物早指南』奥付『書肆 江戸日本橋通二丁目 小林新兵衛 同芝神明前 岡田嘉七 同馬喰町二丁目 西村與八 同横山町二丁目 大坂屋秀八 同芝明神前三島町 和泉屋市兵衛』（天保 7 年丙申春）
- 3) 江原絢子訳・解題：『漬物塩嘉言』，日本農書全集 52 農産加工 3，農山漁村文化協会（1998）
- 4) 宮尾茂雄：『*New Food Industry* Vol.45, No1 縦書き 1p.（2003）
- 5) 『江戸町中喰物重法記』（天明 7 年）：原本 国立国会図書館所蔵
- 6) 小川敏男：『漬物と日本人』，NHK ブックス，日本放送協会（2005）
- 7) 中川芳山堂編：『江戸買物獨案内』上・下巻・飲食之部，出版元河南四郎兵衛他（文政 7（1824）年，神戸大学附属図書館デジタルアーカイブ
- 8) 田中康夫編：『江戸商家・商人名データ総覧』第 2 巻，柊風舎（2010）
- 9) 上原東一郎：『東京買物独案内』商人名家，上原東一郎出版（明治 23 年（1890）），国立国会図書館近代デジタルライブラリー
- 10) 西山松之助他編：『江戸学事典』，弘文堂（1984）
- 11) 社団法人神田市場協会神田市場史刊行会編纂兼発行：『神田市場史上巻』（昭和 43 年）
- 12) 喜田川守貞著，宇佐美英樹校訂：『近世風俗志（守貞謄稿）』岩波書店（1996）
- 13) 中村東洋：『全国有名漬物食料品店籍調』，和洋飲料漬物新報社（昭和 2 年）

月刊「ニューフードインダストリー」へご寄稿ください

弊誌「New Food Industry」は創刊 57 年を迎え、今後もより充実した論文の掲載をしてまいりたいと考えております。この機会に、最近のニュース・トピックス、研究論文などをご寄稿ください。

原稿締切日

毎月 10 日が原稿締め切り日となっておりますのでご都合に合わせて脱稿ください。

原稿枚数

弊誌刷り上がり 1 ページ (2 段組み 1596 字) で 5 ～ 10 ページ (図表含)。長文になる場合はご相談ください。

アプリケーション (ワード・エクセル等) をご使用の場合は、字詰めの指定は必要ありません。論文の脱稿はメール添付または CD にてご提出下さい。なお、手書きの図などがありましたらお手数でもスキャニングして jpeg ファイル等でご提出ください。

脱稿につきましては下記メールアドレスまでデータを添付してご送信ください。データが 15 M を超えるようでしたら分割してご送信いただければ幸いです。

ご不明な点がありましたら、下記アドレスまでお問合せください。

Mail : newfood@newfoodindustry.com

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

ニューフードインダストリー 第57巻 第1号

印刷 平成 26 年 12 月 25 日

発行 平成 27 年 1 月 1 日

発行人 平井 朋美

編集人 結城 ななみ

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 モリモト印刷株式会社

定価 本体2,000円 + 税 (送料100円)

[email:newfood@newfoodindustry.com](mailto:newfood@newfoodindustry.com)