

New Food Industry

食品加工および資材の新知识

<http://www.newfoodindustry.com>

2016 Vol.58 No.12

12

論 説

- 機能性食品研究の現状と今後の動向
- 新しい機能性表示制度と機能性農林水産物
- リグナン腸内細菌代謝産物エンテロラクトンの機能性
- ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性
Prominent antiviral activity of Sasahealth
- ブラジル産グリーンプロポリスの特性とその生理活性 (第二部)
—ブラジル産グリーンプロポリスの生理活性—

連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

- ビワ *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (バラ科 Rosaceae)

連載 デンマーク通信

- デンマークのチーズ

I L S コラム

- お酒の席に・滋養系・健康維持食品素材 肝臓エキス, レバーペプチド「レバーHi」

論 説

- 機消化管上皮を介する食事性リゾリン脂質の病態生理学的作用
—その制御法に関する基礎研究—
- 微粉碎された米粉の流れやすさ
- トマト・ナスの加熱に伴うグアニル酸生成
—加熱調理を考慮した品質特性評価—
- シロザケ種苗を絶食させた時に体型や体成分に影響を及ぼす要因

- 再掲載 驚くべきヒット食品 —『キシリトールガム』株式会社ロッテ—



論 説

- 機能性食品研究の現状と今後の動向
.....大澤 俊彦 1
- 新しい機能性表示制度と機能性農林水産物
.....山本（前田）万里 7
- リグナン腸内細菌代謝産物エンテロラクトンの機能性
.....矢ヶ崎 一三 15
- ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性
Prominent antiviral activity of Sasahealth
..... 福地 邦彦, 坂上 宏, 安井 利一, 金本 大成, 寺久保 繁美,
中島 秀喜, 勝呂まどか, 名取 威徳, 大泉 浩史, 大泉 高明 23
- ブラジル産グリーンプロポリスの特性とその生理活性（第二部）
ーブラジル産グリーンプロポリスの生理活性ー
..... 生田 直子, 松郷 誠一 33

連 載

- 野山の花 ― 身近な山野草の食効・薬効 ―
ビワ *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (バラ科 Rosaceae)
..... 白瀧 義明 44
- デンマーク通信 デンマークのチーズ
..... Naoko Ryde Nishioka 46
- ILS コラム 「レバー Hi」
..... I L S 株式会社 48

Contents

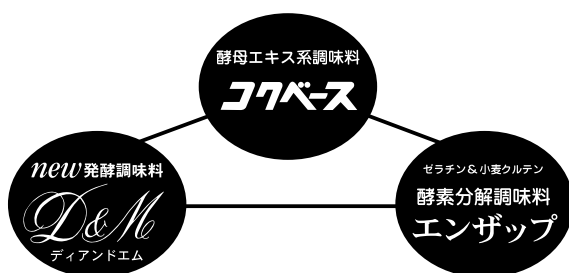
2016 年 12 月号

論 説

- 消化管上皮を介する食事性リゾリン脂質の病態生理学的作用
— その制御法に関する基礎研究 —
..... 徳村 彰 49
- 微粉碎された米粉の流れやすさ
..... 五月女 格 54
- トマト・ナスの加熱に伴うグアニル酸生成
— 加熱調理を考慮した品質特性評価 —
..... 安藤 聡 64
- シロザケ種苗を絶食させた時に体型や体成分に影響を及ぼす要因
..... 大橋 勝彦, 酒本 秀一 71
- 再掲載 驚くべきヒット食品—『キシリトールガム』株式会社ロッテ—
..... 田形 暁作 82

おいしさと健康に真剣です。

酵素分解調味料なら
大日本明治製糖へ



(新発売!) 乳製品にベストマッチな調味料

コクベス
ラクティックイーストエキス
乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳糖酵母エキスです。



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

機能性食品研究の現状と今後の動向

大澤 俊彦 (OSAWA Toshihiko)*

* 愛知学院大学心身科学部・健康栄養学科

Key Words：機能性食品因子 機能性表示食品制度 デザイナーフーズ 抗酸化フードファクター

はじめに

1984年に世界に先駆けて日本で誕生した「食の機能性研究」をきっかけに、アメリカでは「フィトケミカルによるがん予防」に焦点を当てた「デザイナーフーズ」計画、さらには、日本で産声をあげた「食品因子（フードファクター）」の概念は世界的にも広まり、認知されるようになってきた。しかしながら、日本では、国の規制により「機能性」の概念は取り入れることができず、限られた健康表示しかできない「特定保健用食品」としてしか認められなかった。一方、欧米では、このようなビタミン、ミネラル、ハーブなどのもつ栄養性や生理機能に対する補助的な作用が着目されてきましたが、これらの栄養補助食品に対する考え方は必ずしも世界共通ではないのが現状であり、規格基準化と表示の国際的な統一の必要性が討議されてきた。このような背景で、2015年4月にアベノミクスの経済振興策の一環として、「機能性表示食品」制度がスタートした。ここでは、機能性食品研究の現状、特に、「機能性表示食品」制度を紹介し、ゴマなどの抗酸化機能食品の健康に及ぼす役割に関する最新の研究について紹介してみたい。

1. 「攻めの栄養学」への期待

細胞から個体レベル、臨床研究などによる機能評価を進めているが、ある一つの機能性食品成分が、ある特定の病気だけに効くということはない。私たちの体には本来、体を守るための防御機能がいくつか備わっており、これらの機能を高めることが重要である。大切なのは、ある機能性食品にいくら、病気の予防に有効な成分が豊富に含まれているからといって、その食品ばかりを食べるのではなく、バランスのとれた食生活が重要となる¹⁾。私は、「デザイナーフーズ」に日本で研究が進められてきた日本の伝統食品を加え、12の食品群に分類してみた。しかしながら、日常の食事だけでバランスよく12の食品群に含まれている「機能性食品因子」を摂取することは難しいのが現状であるので、どのような「食品成分」が不足しているのか推定することで、「テイラーメイド」のメニューができるのではないかと期待している。そのためには、カロリー制限や塩分摂取の制限のような「守りの栄養学」だけでなく、積極的に機能性を持つ「非栄養素」、特に、バランスのとれた「機能性食品因子」の摂取する「攻めの栄養学」が必要となる。日常の食生活では限られた種類の機能性食品因子しか摂取できないのが

現状であるが、「攻めの栄養学」の実現のためには、科学的根拠（Evidence-based）に基づいた機能性食品因子のバランスの実現が重要な課題となる。

2. 機能性食品研究の夜明け

日本では、1984年に「食品の機能性に関する研究プロジェクト」が世界に先駆けてスタートしている。このプロジェクトは、他に類をみない全く新しいコンセプトの産官学連携の研究計画であり、最初に構築された「機能性食品」の概念は、「機能性成分を精製・抽出して純粋な形で摂取するのではなく、あくまで食品の形態を保ちつつ機能性成分が濃縮されて機能を果たすように創製しよう」というものであった。この流れは、欧米でもファンクショナルフーズとして定着してきている。2001年10月には、パリでファンクショナルフーズ国際シンポジウムが開催され、演者もオーガナイザーとして企画に加わり、特に、ヨーロッパや米国などの企業の研究所における「ファンクショナルフーズ」研究への熱心な取り組みが、多くの出席者との熱気を帯びた討論から肌にしたことを今も強く印象に残っている。

一方、アメリカでは、2000万ドルという、当時の食品関連の研究費としては破格の予算で米国がん研究所（National Cancer Institute: NCI）を中心とするデザイナーフーズ計画に認可され、ニューヨークやボストン、サンフランシスコなどで数多くのシンポジウムが企画・開催されてきた。「デザイナーフーズ」は瞬く間に浸透し、このような国際共同研究の進展の過程で、演者はアメリカを中心とするデザイナーフーズ研究グループより、日本で国際会議を開催してほしいとの要請を受けた。1995年に新設された浜松コンベンションセンター「アクティ」を会場に、フードファクターとがん予防（Cancer Prevention and Food Factors）を主旨とした第1回国際フードファクター会議（International Conference on Food Factors: ICoFF）の開催を成功することができた。この国際会議

は、日本における機能性食品因子（Functional Food Factors）研究の大きな流れのきっかけとなり、そのひとつは、日本フードファクター学会（Japanese Society on Food Factors: JSoFF）の創設であり、現在に至っている²⁾。アメリカでのデザイナーフーズと日本のファンクショナルフーズの両方の概念をDNAとして受け継いだフードファクター研究は、国際的にも大きな影響力を与え、米国やヨーロッパ、台湾、韓国、中国など、広く国際的にも受け入れられていった。もちろん、きっかけとなったがん予防研究においてフードファクターの概念は研究の重要性は日本でも大きく認識され、がん予防を目的とした分野でも多種多様なフードファクター研究へと展開されている。

しかしながら、国は「機能性食品」を認めず、「特定機能性食品」や「栄養機能食品」として認め、前者はすでに1000種以上が限られた表示ではあるが「健康への効能表示」が厚生労働省から認められている。「成人病」や「生活習慣病」などと呼ばれる「疾病」の予防に重要な役割を果たしていることは疑う余地はないが、どのような食品成分がどのようなメカニズムで生理活性を発現するのか、分子レベルからの化学的な研究は、1984年に世界に先駆けて日本でスタートした。この「食品の機能性」に関する研究プロジェクトは、全く新しいコンセプトのプロジェクトであり、この流れは、欧米でも「ファンクショナルフーズ」として定着しつつある。しかし、厚生労働省は「機能性食品」の概念を認めず、健康に有益な食品として、健康表示を認めたものに特定保健用食品や栄養機能食品を認めた。特定保健用食品制度は、平成3年に日本が世界に先駆けて設けた健康表示制度で、健康への効用を謳うことが許可された商品は現在1200品目を超えている。その一方で、「サプリメント」を含む、いわゆる「健康食品」に関しては、薬事法により、健康への有用性、効果の表記は許可されず、消費者に対して商品の健康への有用性や効果に関する情報提供が制限され業界の懸案事項であったが、2013年6月

より、新機能性表示制度に向けて、行政が動き始め、規制改革実施計画の閣議決定で、いわゆる「健康食品」の機能性表示制度についての検討が進められ、2015年4月1日に「機能性表示食品」制度がスタートした。本制度の制定は、業界の大きな変革や市場拡大が予想され、企業にとっては様々な対応が求められるであろう。

3. 「機能性表示食品制度」とは

今まで、我が国で食品の機能性を表示できるのは「栄養機能食品」と「特定保健用食品」に限られており、これら以外の食品に機能性表示を行うことは、食品衛生法や健康増進法により禁止されている。しかし、栄養機能食品については対象成分が限定されていること、特定保健用食品については、その安全性や有効性について、食品ごとに臨床試験が必要であり、時間も費用もかかるため、中小企業にはハードルの高いものであることが指摘されてきた。

このような背景で生まれた「機能性表示食品制度」は、米国のダイエタリーサプリメントの表示制度を参考に検討が進められた。その結果、最終製品を用いた臨床試験の実施か、最終製品もしくは機能性成分に関する研究論文のシステムティックレビューの実施により、機能性の根拠を消費者庁へ申請することで60日後には開発者の責任で市場に出すことができるというものである。新制度は、食品全般を対象としているが、アルコールや、ナトリウム、糖等の過剰摂取につながる食品については、一定の機能が認められたとしても、摂取による悪影響を否定できないため、対象外となっている。対象者については、生活習慣病等の疾病に罹患する前の人、または、その境界線上の人としている。既に疾病に罹患している人（医薬品等により治療されるべき人）に対して機能性を訴求するような製品開発や販売促進は行わないこととされている。同様に、未成年者（製品の利用等についての判断力が不十分である可能性があるため）、妊娠計画中の人を含む妊産婦（安全性に関する情報が十分ではないため）への訴求もしないこ

ととなっている。

また、従来の制度下では薬事法の規制により認められていなかった“身体の特定の部位”に言及した表現が可能であることも、新制度の特徴の1つである。これは、厚生労働省より「当該範囲内であれば、身体の特定の部位に言及した表現のみをもって、直ちに医薬品に該当するとは判断しない」という方針が示されたことによるものであるが、疾病の治療効果や予防効果を暗示するような表現や、「肉体改造」のように、健康の維持・増進の範囲を超えた表現は、薬事法の規制対象となる。消費者に誤認を与えないためには、機能性に関する情報の開示も必要で、国の評価を受けたものではない旨、疾病の予防や治療を目的としたものではない旨等について容器包装に表示する他、表示内容に関する科学的根拠について、容器包装への表示以外の手段を用いて情報開示をすることとされている。2015年4月にスタートした「機能性表示制度」により、2016年8月10日現在で受理された「機能性表示食品」は、378件に到達した。素材別では、ビフィズス菌関連が難消化性デキストリン（41件）を抜いてトップ（43件）となり、携帯も、ヨーグルト、飲料、菓子などの一般食品が多く見られた。また、機能性としては、肥満に係るものが最も多く、次いで成長・便通、中性脂肪、肌、間接、ストレス、睡眠などの機能性表示が多く申請されている。しかしながら、生鮮食品については、三ヶ日町農業協同組合の生鮮食品『三ヶ日みかん』（関与成分：β-クリプトキサンチン）と共に、（株）サラダコスモの『大豆イソフラボン子大豆もやし』および『大豆スーパースプラウトベジフラボン』（同：大豆イソフラボン）の3商品だけであるが、今後どれだけ増えてくるのか、大きな注目を集めている³⁾。

4. 「抗酸化フードファクター」研究の重要性

植物界には生体内において女性ホルモン様活性を示すものが存在しており、それら

は植物エストロゲン（フィトエストロゲン：Phytoestrogen）とよばれ、代表的なものとしてダイズイソフラボン類やカラス麦中のエンテロラクトン類が知られ、特にイソフラボン類に関しては日本のみならず欧米諸国で精力的に研究が進められている。今までの多くの研究により、ダイズイソフラボン類は、生体内での種々の生理機能を発揮することが明らかにされてきているが、その発現には個人差が認められている。その理由として、ダイズイソフラボン類よりも、その体内代謝物であるエコールが強い活性を有することが近年示唆されている。

ダイズイソフラボン類からエクオールへの代謝は腸内細菌により行われるため個人差があり、従来は日本人の50%以上が変換能を有していると推定されていたが、最近の研究では、日本人でも若年層では変換能が低く、ダイズイソフラボン類の機能を活かせていないといわれるものの詳細は明らかでなかった。われわれは、エクオールに特異的なモノクローナル抗体を開発し、抗エクオール抗体を搭載したイムノクロマト法を確立した。実際に、武庫川女子大学の家森教授らとの共同研究で検討したところ、エクオール変換能を持った腸内細菌を有する日本人は激減していることが判明した。このような背景で、ダイズイソフラボン類を腸内細菌で発酵させることで、特に、更年期障害に悩む女性にターゲットを当てた「エクオールを含む発酵ダイズ食品」が開発され、多くの注目を集めている。その代表例が、大塚薬品工業（株）が開発した「エクエル」であり、通販やドラッグストアでの対面販売を通じて、オーダーメイドの機能性食品開発を目指している。

このような抗酸化フェノールは、ダイズ以外にも、ゴマやターメリックをはじめ多種多様なハーブや香辛料に多く含まれている⁴⁾。特に、太白ゴマ油中の主要な脂溶性抗酸化物質のセサミノールは強力な抗酸化性を有し、ヒトのLDLの酸化傷害を高脂血症治療薬であるプロブコールに較べてはるかに強力な酸化抑制効果が見出された。しかも、ゴマ種子中にセサミノール

配糖体として大量に存在しているが、抗酸化前駆物質として摂取されたのち、腸内細菌の持つ β -グルコシダーゼの作用で生成したセサミノールが腸管から吸収され、さらにセサミノールカテコール体に代謝され、最終的には血液を経て各種臓器中に至り、生体膜などの酸化的傷害を防御すると考えられている。最近、動脈硬化症動脈硬化モデル細胞として、ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVECs）を用いて検討した結果、セサミノール代謝物は接着分子の発現を濃度依存的に抑制した。また、セサミノール代謝物はセサミンやセサモリンよりも抗酸化性が強く、特に、セサミノールカテコールは炎症性サイトカインを産生するような炎症部位において、有意に作用し、動脈硬化の発症についても有効性を示す可能性が示唆された。

微生物は古来より醸造や発酵食品といった食品加工に広く利用されており、わが国では、特に麹菌（*Aspergillus* 属）を利用したものが多く知られている。麹菌は様々な酵素を生産し、その多彩な作用により、原料には見られない甘味や風味成分が付与されたり、栄養価が増大したりすることが知られている。近年、我々のグループは、ゴマ脱脂粕に種々の麹菌を作用させたところ、特に、八丁味噌や黒泡盛の発酵に用いられる黒麹菌（*Aspergillus saitoi*）とともに、白麹菌（*Aspergillus usami* mut. *shirousamii*）でも代謝され、カテコール体に変換されることを報告した。ゴマという機能性食品を発酵することによってさらに高い生理活性を有する物質へ変換されるという結果は、新たな機能性食品開発への大きな原動力となりうる。微生物は古来より醸造や発酵食品といった食品加工に広く利用されており、我国では、特に麹菌（*Aspergillus* 属）を利用したものが多く知られている。麹菌は様々な酵素を生産し、その多彩な作用により、原料にはみられない甘味や風味成分が付与されたり、栄養価が増大したりすることが知られているので、長い歴史を持ち、一般的にも知られている発酵法に、新しい現代の科学の光を当てる必要があるのではないだろうか⁵⁾。

5. 抗酸化食品のヒト臨床への応用

多種多様な抗酸化食品の開発研究が盛んに進められている。しかしながら、抗酸化成分の摂取量と健康影響に関する生体内抗酸化作用に関する学術研究が不足している。そこで、我が国においても、産官学連携の抗酸化研究の必要性が叫ばれてきたので、適切な食品の抗酸化能指標を目指し、食品の抗酸化力に対する統一した抗酸化指標「Antioxidant Unit」の確立とその表示の検討を行い、食品における抗酸化物質の普及を通じて国民の健康に寄与することを目的として、演者が理事長となり、2007年に「AOU (Antioxidant Unit) 研究会」(<http://www.antioxidant-unit.com/index.htm>)が設立された。現在、108社(2014年11月現在)の企業も含めた産官学の連携により運営され、多くのデータの収集と解析が進められている。特に、ポリフェノール類やビタミンCなどの抗酸化表示のためには、ORAC法を中心としたAOU-P、また、アスタキサンチンやリコピンなどを含めたカロテノイド類に対しては、一重項酸素捕捉能(SOAC; Singlet Oxygen Absorption Capacity)を基盤にしたAOU-C法を用いることで、ほとんどの食品の抗酸化単位として対応できることが明確となっている。現在の保健機能食品制度では「抗酸化性」の機能表示は認められていないが、「抗酸化サプリメント」や、様々な方法で間接的に「抗酸化力」を謳っている健康食品は市場に溢れ、膨大な数となっている。著者は、以前より「抗酸化性」の表示が薬事法に係るとの対応には疑問を持っていたので、新たに、統一した抗酸化機能表示ができないものかと期待した次第である。

このような多種多様な抗酸化機能食品成分の評価法として、われわれの研究グループが中心となって、疾患予防バイオマーカーや酸化ストレスバイオマーカーに特異的なモノクローナル抗体を搭載した「抗体チップ」を作製し、科学的根拠を持つ生体内抗酸化食品評価システムの確立を目指した研究を進めてきたが、最近、(株)浜松ホトニクス研究所の數村公子専任部

員らとの共同研究により、多くの生活習慣病や認知症の発症に関わる炎症反応に重要な役割を果たす好中球免疫過剰応答で生じる酸化ストレスを測定するプロジェクトがスタートした。抗酸化食品を摂取前後で採取された微量の末梢血を用い、蛍光・化学発光同時測定装置で測定することで、抗酸化食品の生体内抗酸化機能を評価しようとするものである。このプロジェクトは、平成26年度「戦略的イノベーション創造プログラム」(次世代農林水産業創造プログラム)に採択されているので、ヒト臨床系における抗酸化食品の評価研究が一層進展するものと期待されている⁶⁾。

そのような研究の一例として進めている「カカオポリフェノール」の抗酸化機能評価のヒト臨床研究を紹介してみたい。我々の研究グループは、チョコレート・ココアに機能性成分であるカカオポリフェノールの持つ動脈硬化予防作用を中心に、糖尿病や白内障などの予防、さらには、がん予防作用など、細胞レベルから動物レベルまでの多種多様な機能性を発表し、また、論文での報告も進めてきた⁷⁾。一方、大規模なヒト臨床研究は、日本ではほとんど行われず、欧米が中心の研究であったが、その内容は、1日に100グラム、500キロカロリー以上のチョコレートの摂取での研究が大半で、血圧低下や動脈硬化予防効果の結果は得られたものの、摂取カロリーも高く、体重が増加する結果も生じた。また、今まで日本人を対象にした大規模な臨床研究もなかったので、(株)明治と蒲郡市民病院、愛知学院大学との共同研究に(株)ヘルスケアシステムズが業務委託機関として加わり、アジア系の人種に限ってチョコレート大規模調査を行った。研究内容は、カロリーの取り過ぎを避けるため、72%カカオポリフェノール含有チョコレートを選び、1日25グラムを4週間、347人の一般市民に摂取してもらった。その結果、正常血圧の人に比べ高血圧の人の血圧は大きく下がったにもかかわらず、同時に調査した体重とBMIに影響は出ず、さらにHDLコレステロール値の上昇がみられ

ると共に、精神的、肉体的活動にも安定であるという結果であった。この健康調査アンケート(SF-36@)の結果に着目し、我々は、その因果関係を探るべくさらに追加分析を行ったところ、チョコレートの摂取前後で、脳細胞の増加に必要とされ、各種研究でうつ病やアルツハイマー型認知症や、記憶、学習といった認知機能と関連性が報告されている BDNF (Brain-derived neurotrophic factor: 脳由来神経栄養因子) が有意に上昇することがわかった。BDNF とは、神経細胞の発生・成長・維持・再生を促進させる神経栄養因子(分泌性タンパク質)の一種で、1982年に初めてブタの脳から精製されている。BDNFは海馬などの中枢神経系に多く存在しているが、血液中にも存在し、また、血液中の BDNF は、血液脳関門を通過すると考えられている。BDNF は、ニューロンの産生や神経突起の伸長促進、神経伝達物質の合成促進などに関与し、運動や脳活ゲームなどでは、BDNF が上昇し、認知症の予防とも関係すると考えられている⁸⁾。

6. 抗酸化食品の機能性表示

消費者庁食品表示企画課の担当官は、機能性表示食品制度の施行前である 2015 年 3 月に「抗

酸化」の機能性表示の実現可能性について、科学的見地からすると難しいとの発表を行った。「人体において抗酸化することが健康の維持・増進にどう寄与するのかを科学的に説明するのが難しいのが現状で、健康の維持・増進に資するということを科学的根拠により説明できれば機能性表示もできるのではないか」との見解を示していた。ところが、(株)サントリーウエルネスの「セサミン EX」について消費者庁は 2016 年 3 月 16 日に、機能性表示食品の届け出を受理し 3 月 16 日に公表した。「抗酸化」の文言が入った機能性表示について、届け出が受理されたのは初めてである。機能性関与成分はゴマリグナンの「セサミン」であり、表示しようとする機能性は「本品はセサミンを含み、抗酸化力を向上させ日常的に疲れを感じる方の寝つき、眠りの深さ、寝覚めという体調の改善に役立ちます」というものである。機能性のエビデンスは最終製品を用いた臨床試験で評価し、「抗酸化作用」が機能性表示として初めて届け出が受理された例である³⁾。われわれも、AOU 研究会の活動を通じて、抗酸化表示の拡大の活動を進めており、今後、産官学で強調しながら、活動の更なる展開を進めてゆきたいと考えている⁹⁾。

参考文献

1. 大澤俊彦：アンチエイジングを考えた食事アドバイス；*creabeaux*, **72**, 2-5, 2012.
2. 大澤俊彦：超簡単フードファクター（第1回 フードファクターの誕生）、アンチエイジング医学—日本抗加齢医学会雑誌, **9**(1), 77-82 (2013.2)
3. 消費者庁ホームページ (<http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin1443.pdf>)
4. 大澤俊彦：ポリフェノール、腎と透析, **79**(5), 751-755, 2015.
5. 大澤俊彦：発酵で変わる機能性成分のパワー, *Food Style 21*, **17**(11), 42-47, 2013.
6. 大澤俊彦：活性酸素と抗酸化物質, 臨床医学, **44**(3), 183-190, 2015.
7. 大澤俊彦, 木村修一, 古谷野哲夫, 佐藤清隆共著：チョコレートの科学, 朝倉書店, 東京, 2015.
8. 大澤俊彦：カカオポリフェノールと健康長寿—細胞レベルからヒト臨床試験まで, 第15回日本抗加齢学会総会シンポジウム(栄養と健康長寿～抗酸化食品・機能性成分に着目して～), 福岡, 2015.6.30
9. 大澤俊彦：健康機能食品とバイオマーカー (ORAC, AOUを含む)。アンチ・エイジング医学—日本抗加齢医学会雑誌, **4**(1), 37-43, 2008.

新しい機能性表示制度と機能性農林水産物

山本（前田）万里 (MAEDA-YAMAMOTO Mari)*

* 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門

Key Words：機能性表示制度 機能性表示食品 トクホ 機能性表示農産物

はじめに

食品は健康の維持・増進や疾病予防に大きな役割を果たしている。農産物や食品の機能性研究においては、機能性成分の探索、同定、分析、エビデンス獲得、作用メカニズムの解析や機能性成分を多く含む農産物開発などを経て機能性食品が生み出されてきた。機能性を持った食品成分としては、食物繊維、ポリフェノール類、カロテノイド類が主要なものとされている。機能性食品関連のトピックとしては、2015年4月1日から、事業者が責任を持って自主的な機能性表示が可能とした新しい制度¹⁾がスタートした。この「機能性表示食品」¹⁾は、事業者の責任で、科学的根拠を基に商品パッケージに機能性を表示できる届け出食品であり、健康人や未病者の健康維持・増進に係る部位表現も範囲となった。農林水産物や低次加工食品の機能性表示も認められているので、現在、農研機構で実施している機能性農産物開発を含めて、今後開発されるであろう機能性表示食品などを紹介したい。

1. 新たな機能性表示制度について

従来、日本で健康や栄養の表示が可能な食品は、特定保健用食品（トクホ）、栄養機能食品、特別用途食品であった²⁾。トクホは製品ごとに食品の有効性や安全性について審査を受け、表示について国の許可を受ける必要がある。疾病リスク低減表示（規格基準型）では、カルシウム（骨粗鬆症予防）、葉酸（障害を持つ子供が生まれるリスクの低減）が認められている。栄養機能食品は、栄養成分（ビタミン・ミネラル）の補給のために利用される食品で、一日当たりの摂取目安量に含まれる当該栄養成分量を定め

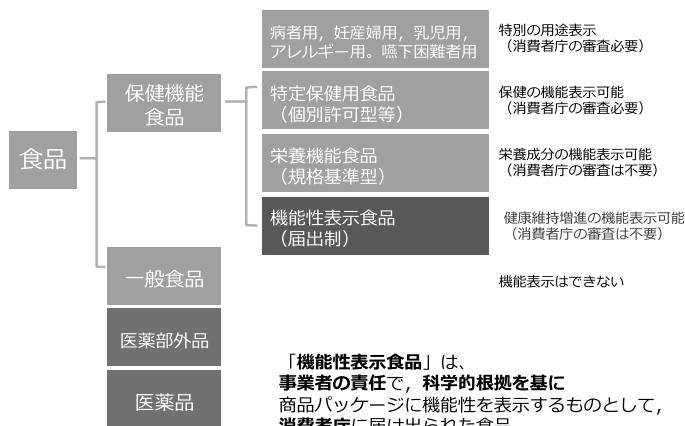


図1 口に入るものの分類

表1 機能性表示農産物の届け出要件

●販売しようとする事業者自らが安全性や機能性を評価すること
●機能性関与成分が明らかで定量できること（標準化された分析法）
●機能性の作用機序が <i>in vitro</i> 試験及び <i>in vivo</i> 試験、又は臨床試験により考察されていること
●最終製品を用いた臨床試験か、最終製品が機能性関与成分に関する研究レビュー（臨床試験 or 観察研究）で機能性の根拠が説明できること
●食経験があるか、安全性試験が実施されており安全性が担保されていること
●健康維持・増進に係る食品による、ヒトの構造や機能への影響に関する表示が可能である。
●発売日の60日前までに消費者庁に届け出て容器包装に表示できるもの
●1日摂取目安量が通常食べられる分量であること（塩分、糖分、飽和脂肪酸、コレステロールを過剰摂取させる食品は不可）、摂取基準のある栄養成分や栄養機能食品の対象となる成分（ビタミン、ミネラル）は対象外

られた上・下限値の範囲内におさめて注意喚起を行った上で栄養成分の機能を表示できる。特別用途食品は、乳児、幼児、妊産婦、病者等の発育または健康の保持もしくは回復の用に供することが適当な旨を医学的、栄養学的表現で記載し、かつ用途を限定したものをいい、許可されたものには許可証票がつけられている(図1)。

海外では、規格基準型や個別認可型の栄養機能食品、構造・機能食品、疾病リスク低減食品が制度化されており、届出型の機能性表示食品(サプリメントのみ)はアメリカで唯一認められた制度だった³⁾。2013年1月から発足した規制改革会議の中で、トクホについては食品ごとに安全性や有効性に係るヒト介入試験が必須であり、許可手続に時間と費用がかかるため中小企業にとってハードルが高いことなどの課題が指摘された。そこで、規制改革実施計画(2013年6月14日閣議決定)⁴⁾で、「食の有する健康増進機能の活用」として、いわゆる健康食品等の加工食品および農林水産物に関し、企業等の責任において科学的根拠をもとに機能性を表示できる新たな方策について、2013年度中に検討を開始し、2014年度中に結論を得た上で実施すると記載された。それを受けて、「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」⁵⁾が消費者庁に設置されて8回にわたって制度のあり方について審議された⁵⁾。検討会の結果を受け、報告書やガイドラインが消費者庁から出され、2015年4月1日から機能性表示食品制度が、食品表示基準の中で施行された¹⁾。新しい機能

性表示制度における、農林水産物や単一の農林水産物のみを原材料とする加工食品での届け出要件を表1に示す。

2. 機能性表示農産物

2016年10月23日現在まで、機能性表示食品として届出受理された食品は470品目であり、そのうち生鮮食品でウンシュウミカン(機能性関与成分はβ-クリプトキサンチン；骨の健康の維持、大豆もやし(イソフラボン；骨の健康の維持)、単一の農林水産物のみが原材料である加工食品では、緑茶(メチル化カテキン；ハウスダストによる目や鼻の不快感軽減)、蒸し大豆・蒸しサラダ豆(イソフラボン；骨の健康の維持)、大麦・蒸し大麦・蒸し雑穀(β-グルカン；血中コレステロールの低下)、無洗米(GABA；血圧調節)、トマトジュース(リコピン；HDLコレステロールの増加作用)など(図2)が受理された。機能性表示農産物としては、ま



図2 機能性表示食品の事例

表2 栄養機能食品（抜粋）

栄養成分	1日摂取 目安量下限値	1日摂取 目安量上限値	栄養機能表示
ビタミンA (μg)	135	600	ビタミンAは、夜間の視力の維持を助ける栄養素です。 ビタミンAは、皮膚や粘膜の健康維持を助ける栄養素です。
ビタミンB ₁ (mg)	0.3	25	ビタミンB ₁ は、炭水化物からのエネルギー産生と皮膚や粘膜の健康維持を助ける栄養素です。
ビタミンB ₁₂ (μg)	0.6	60	ビタミンB ₁₂ は、赤血球の形成を助ける栄養素です。
ビタミンC (mg)	24	1000	ビタミンCは、皮膚や粘膜の健康維持を助けるとともに、抗酸化作用を持つ栄養素です。
ビタミンD (μg)	1.5	5.0	ビタミンDは、腸管でのカルシウムの吸収を促進し、骨の形成を助ける栄養素です。
ビタミンE (mg)	2.4	150	ビタミンEは、抗酸化作用により、体内の脂質を酸化から守り、細胞の健康維持を助ける栄養素です。
マグネシウム (mg)	75	300	マグネシウムは、骨や歯の形成に必要な栄養素です。 マグネシウムは、多くの体内酵素の正常な働きとエネルギー産生を助けるとともに、血液循環を正常に保つのに必要な栄養素です。
亜鉛 (mg)	2.1	15	亜鉛は、味覚を正常に保つのに必要な栄養素です。 亜鉛は、皮膚や粘膜の健康維持を助ける栄養素です。 亜鉛は、たんぱく質・核酸の代謝に関与して、健康の維持に役立つ栄養素です。
葉酸 (μg)	60	200	葉酸は、赤血球の形成を助ける栄養素です。 葉酸は、胎児の正常な発育に寄与する栄養素です。

だあまり多くの品目が受理されていないが、葉菜、果菜、根菜などの野菜類は、ビタミン、ミネラルの給源として健康維持・増進のために重要な食品である。含有量が保証できれば、栄養機能食品(ナイアシン、パントテン酸、ビオチン、ビタミンA、B₁、B₂、B₆、B₁₂、C、D、E、葉酸、亜鉛、カルシウム、鉄、銅、マグネシウム)としての表示は可能(表2)だが、生鮮食品で表示されている製品例はピーマン(ビタミンC)、イチゴ(ビタミンC)、豆苗(葉酸)、かいわれ大根(ビタミンB₁₂)などでありこちらも多くはないは今後増加してくるものと思われる。

3. 機能性を有する農産物の開発について

農研機構では今までに、いくつかの農産物についてヒト介入試験を含めた機能性の評価を行ってきた。1つは緑茶で、アレルギー鼻炎様

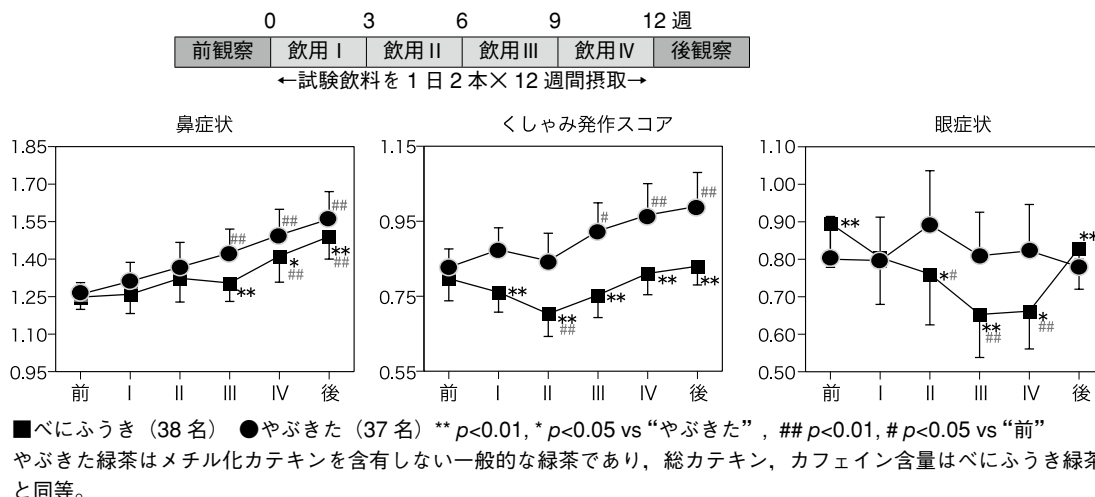
有症者にメチル化カテキンを多く含有する「べにふうき」緑茶とメチル化カテキンを含まない「やぶきた」緑茶を長期飲用してもらうと、「べにふうき」緑茶で有意に目や鼻の症状の悪化が抑制された(図3)⁶⁻⁸⁾。この結果を利用して「べにふうき」緑茶ティーバッグ(A67)⁹⁾および「べにふうき」緑茶ペット飲料(A69)⁹⁾が初めての抗アレルギー機能性表示食品として受理された(機能性表示:メチル化カテキンは、ハウスダストやほこりなどによる目や鼻の不快感を軽減することが報告されている)。機能性関与成分はメチル化カテキン(エピガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)ガレート)であり、マスト細胞や好塩基球でのチロシinkinナーゼ抑制やカテキン受容体を介した情報伝達系の阻害によりヒスタミン遊離が抑制されることが作用メカニズムである¹⁰⁻¹²⁾(図4)と考察している。緑茶カテキンでは、メチル化カテキンのLDL

被 験 者：ダニを主体とする通年性アレルギー性鼻炎の症状を有し、抗アレルギー剤を服用していない境界領域の者（75 人）

試 験 飲 料：1 本 350mL の茶飲料“べにふうき” 緑茶は 1 本に 17mg のメチル化カテキンを含有する。

スケジュール：前後の観察期間は 4 週間

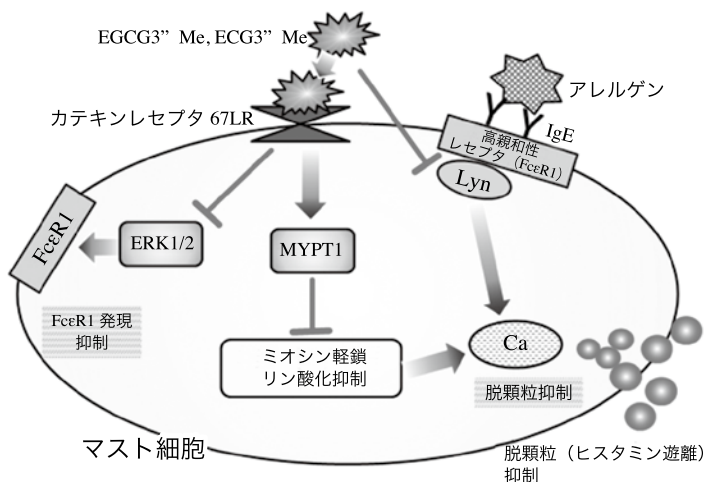
症 状 の 把 握：日本アレルギー学会診療ガイドライン案に沿って作成したアレルギー日誌に被験者自ら症状の程度を記録（主観的スコア）



スコアは値が大きいほど症状がひどいことを表す。スコアは”鼻アレルギー診療ガイドライン（第5版）”および医師の診断基準に基づき、0点（症状なし）～4点（最重症）の5段階で評価した。鼻症状はくしゃみ、鼻汁、鼻閉、眼症状は目のかゆみ、流涙の症状を表す。

前：飲用前、I：飲用0～3週間、II：飲用4～6週間、III：飲用7～9週間、IV：飲用10～12週間、後：飲用終了後

図3 ベにふうき緑茶の臨床試験



メチル化カテキンは緑茶カテキン受容体を介した高親和性 IgE 受容体発現の抑制ならびにヒスタミン放出阻害を通じて抗アレルギー作用を発揮する。

図4 メチル化カテキンの作用メカニズム

コレステロール低下効果や変性 LDL 低下効果があり（図5）¹³⁾，その他、エピガロカテキンガレートの血圧上昇抑制効果、エピガロカテキンの免疫賦活作用などが、今後の機能性表示食品のターゲットとなり得ると考えている。また、2003 年度から浜松市（旧三ヶ日町）と合同で行ってきた栄養疫学調査（「三ヶ日町研究」）で、ウンシュウミカンなどの果物や野菜に含まれるカロテノイド類と健康状態との関連を経時的に調査してきた。その中で、ウンシュウミカンをよく食べ（機能性関与成分であるβ-クリプトキサンチンで1日3-4mg）、閉経女性での骨粗鬆症のリスク¹³⁾，

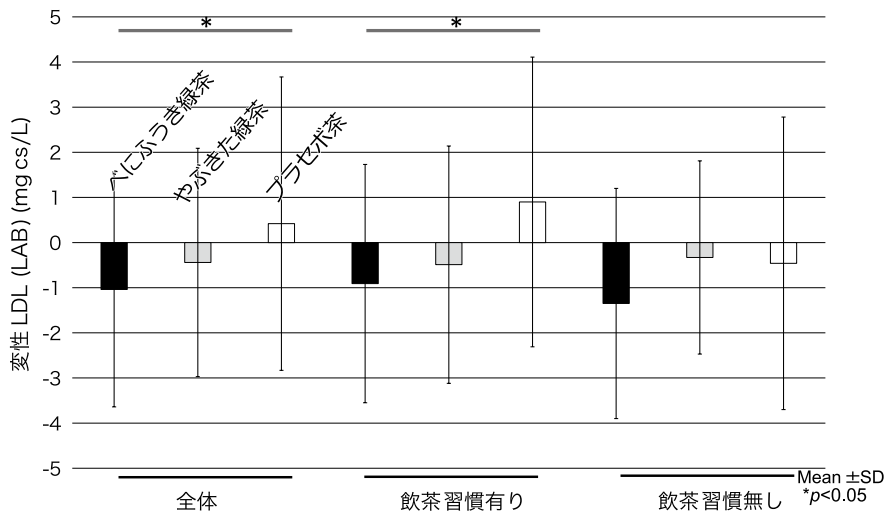


図5 緑茶の動脈硬化予防に関する臨床試験

アルコール飲用者での γ -GPT 値の上昇リスク¹⁵⁾、血中の β -クリプトキサンチン濃度の高い人では動脈硬化のリスク¹⁶⁾、喫煙者におけるメタボのリスク¹⁷⁾、インスリン抵抗性のリスク¹⁸⁾が低いことが明らかにされた。これらの成果を活用して、飲料メーカーから、 β -クリプトキサンチンをウンシュウミカン3個分含ん

だ飲料が上市された。ウンシュウミカン (A79)¹⁹⁾は初めての生鮮食品として受理された(機能性表示:本品には、 β -クリプトキサンチンが含まれています。 β -クリプトキサンチンは骨代謝のはたらきを助けることにより、骨の健康に役立つことが報告されています)。これらは、農林水産省の2014年度緊急対策事業で公開さ

表3 農産物9品目の研究レビュー(届出様式作成例)

番号	品目	機能性 関与成分	機能性表示
1	緑茶		表4参照
2	ウンシュウミカン	β -クリプトキサンチン	表4参照
3	緑茶	エピガロカテキン ガレート (EGCG)	本品には緑茶 EGCG が含まれています。緑茶 EGCG には、LDL コレステロール値が高めの方の LDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。
4	ホウレンソウ	ルテイン	表4参照
5	大麦	β -グルカン	本品には大麦由来 β -グルカンが含まれています。大麦由来 β -グルカンには、LDL コレステロール値が高めの方の LDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。
6	魚	EPA/DHA	本品には魚の EPA・DHA が含まれています。魚の EPA・DHA には、血中中性脂肪が高めの方の血中中性脂肪を下げる機能のあることが報告されています。
7	大豆	β -コングリシニン	表4参照
8	リンゴ	プロシアニジン	表4参照
9	こんにゃくいも	グルコマンナン (粉末)	本品にはこんにゃく芋由来グルコマンナンが含まれています。こんにゃく芋由来グルコマンナン(粉末)には、LDL コレステロール値が高めの方の LDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。

表4 機能性表示農産物（すでに上市されているもの、今後上市が想定されるもの）

品目 (届出番号、品種、栽培法等)	機能性表示（想定されるものも含む）
温州みかん (A79)	本品には、 β -クリプトキサンチンが含まれています。 β -クリプトキサンチンは骨代謝のはたらきを助けることにより、骨の健康に役立つことが報告されています。
緑茶（べにふうき） (A67)	本品にはメチル化カテキン（エピガロカテキン-3-O-（3-O-メチル）ガレート）が含まれます。メチル化カテキンは、ハウスダストやほこりなどによる目や鼻の不快感を軽減することが報告されています。
大豆もやし (A80, A206)	本品には大豆イソフラボンが含まれます。大豆イソフラボンは骨の成分を維持する働きによって、骨の健康に役立つことが報告されています。
蒸し大豆 (A123, A283)	本品には大豆イソフラボンが含まれています。大豆イソフラボンには骨の成分の維持に役立つ機能があることが報告されています。
無洗米 (A114)	本品には γ アミノ酪酸（GABA）が含まれています。GABAには血圧が高めの方に適した機能があることが報告されています。
大麦 (A49, A100, A239)	本品には大麦 β -グルカン（食物繊維）が含まれます。大麦 β -グルカンには糖質の吸収を抑える、血中コレステロールが高めの方の血中コレステロールを低下させる、おなかの調子を整える機能があることが報告されています。
トマトジュース (A106)	本品にはリコピンが含まれます。リコピンには血中HDL（善玉）コレステロールを増やす働きが報告されています。
ハウレンソウ (寒締め栽培)	本品にはルテインが含まれています。ルテインには、光による刺激から目を保護するとされる網膜（黄斑部）の色素量を増加させることが報告されています。
リンゴ (ルビースイート)	本品にはりんご由来プロシアニジンが含まれています。りんご由来プロシアニジンには、LDLコレステロール値が高めの方のLDLコレステロール値を下げる機能があることが報告されています。
タマネギ (クエルゴールド)	本品にはケルセチンが含まれ、認知機能の一部である記憶力を維持する機能があります。
大豆 (ななほまれ)	本品には大豆 β -コングリシニンが含まれています。大豆 β -コングリシニンには、内臓脂肪が気になる方の内臓脂肪を減少させる機能があることが報告されています。

れたシステムティックレビュー²⁰⁾を利用した。

また、「機能性を持つ農林水産物・食品開発プロジェクト」²¹⁾を実施し（2012-2015年度）、この中で機能性農産物やそれらを使った機能性弁当のヒト介入試験による健康維持増進効果の検証を行った。高レジスタントスターチ米（こなゆきの舞）、表面加工玄米、大麦（きらりもち）、小麦全粒粉、だったんそば（満天きらり）、大豆（ななほまれ）、人参（こいくれなひ）、タマネギ（クエルゴールド）、ゴーヤ、ウンシュウミカン、緑茶などがその検証品目（括弧内は品種名）であり、3～6ヶ月の連続摂取により、脂質代謝や糖代謝改善作用が認められた。食生活全体の変化と機能性農産物を使用した機能性

弁当の連続摂取（159人、3ヶ月のヒト介入試験）により、内臓脂肪面積の低減効果が期待されることが明らかになった。さらに、一般食材や機能性農産物の機能性成分量、栄養診断ソフト、調理によるビタミンなどの変動など収載したデータベースの構築も行った。本データベースには、機能性表示制度のガイドラインに沿った、農産物（ほうれんそう（ルテイン）、大麦（ β -グルカン）、大豆（ β -コングリシニン）、りんご（プロシアニジン）、緑茶（エピガロカテキンガレート）、魚（DHA/EPA）、こんにゃく芋（グルコマンナン）に関するシステムティックレビューが掲載²²⁾され、事業者が自由に利用できる（表3）。これらも受けて、今後、市

場に出てくると想定される生鮮食品や加工食品の機能性表示食品をすでに受理された食品とともに表4に示す。

4. 機能性表示にあたっての課題

機能性を表示するにあたって1つの課題がある。野菜や果実などの生鮮食品は、品種、産地(圃場)、栽培時期、栽培方法などで機能性関与成分量が異なり、小売店での販売期間中にも減少する可能性があるため、機能性関与成分のバラツキをいかに小さくするかということである。農水省では、その考え方を「機能性表示に向けた技術的対応」としてまとめ、2015年8月24日にWEB上で公開した²³⁾。

そこには、生鮮食品や単一の農林水産物のみが原材料である加工食品の表示のために取り組むべき事項として、機能性成分濃度の規格設定と届出後のモニタリング検査 ①届出前のデータ収集。②届出前の規格設定、③届出後の機能性成分濃度のモニタリング、④規格からの逸脱への対応、⑤規格外品への対応や生産方法の改善と品質管理の事例が載せられている。生産者や単一の農林水産物のみを原材料としている加工食品(緑茶、大麦、米、干し椎茸、ストレートジュースなど)はバラツキを最小限にしようとする最適な品質工程管理を確立することが求められるが、消費者も購入後は新鮮なうちに、推奨される調理法で消費することが重要となる。また、どうしても表示値を下回る可能性がある場合は、「○○(機能性関与成分)の含有量が一定の範囲内に収まるよう、栽培・出荷等の管理を実施しています。しかし、△△は生鮮食品ですので、◇◇(バラツキの要因)などによって、○○(機能性関与成分)の含有量が表示されている量を下回る場合があります。」といった注意書きを付すことが機能性表示のガイドライン

に記載されているので積極的に利用したい。今後の課題としては、生鮮食品や単一の農林水産物のみが原材料である加工食品に含まれる機能性関与成分を「非破壊で全数測定」できるような高精度オンライン計測機の開発を進めていくことであり、それが消費者の機能性表示生鮮食品への受容性を高めることにもなる。

また、今までの研究例が少なく研究レビューの実施が困難な農産物も多々ある。その場合は、最終製品(農産物そのもの)で臨床試験を行う必要があるが、臨床試験では、2つの農産物を一定期間摂取して、両群間に農産物の場合は、対照となるプラセボ(機能性関与成分が含まれていない見かけなどが同様の被験食)を選定、製造するのが困難な場合が多い。農産物の場合は、多くの場合、品種を変えて機能性関与成分含有量の差異を出すのだが、機能性関与成分が全く含まれていない同種の農産物を見つけることが難しく、プラセボにも機能性関与成分が含まれていて効果を検証したいアクティブ農産物との差があまりない場合は、効果の差も検出しにくい。

おわりに

消費者庁のホームページにたくさんの機能性に関する届出情報が開示されているので、消費者にとっては今までより正しい情報が得られるというメリットがあり、商品選択の機会が増える。ただし、特定保健用食品や栄養機能食品などとの違いを見分け、たくさんの情報から自分にとって必要な食品を選択する「能力やセンス」が求められてくる。機能性表示野菜を上手に生活に生かしてもらうためには、事業者側でも、その情報を正しく消費者に理解してもらう方法を考えていく必要がある。

文 献

1. 機能性表示食品に関する情報（消費者庁）：<http://www.caa.go.jp/foods/index23.html>
2. 栄養と健康に関する表示について（消費者庁）：<http://www.caa.go.jp/foods/index.html#m02-3>
3. 諸外国の機能性表示制度（消費者庁）：http://www.caa.go.jp/foods/pdf/140502_sanko_3_3.pdf#search=%E6%B5%B7%E5%A4%96+%E6%A9%9F%E8%83%BD%E6%80%A7%E8%A1%A8%E7%A4%BA+%E9%A3%9F%E5%93%81+%E6%B6%88%E8%B2%BB%E8%80%85%E5%BA%81
4. 規制改革実施計画（内閣府）：<http://www8.cao.go.jp/kisei-kaikaku/kaigi/publication/130614/item1.pdf#search=2013%E5%B9%B4%E6%9C%88%E6%97%A5%E9%96%A3%E8%AD%B0%E6%B1%BA%E5%AE%9A> http://www.caa.go.jp/foods/pdf/140502_sanko_1.pdf
5. 食品の新たな機能性表示制度に関する検討会（消費者庁）：<http://www.caa.go.jp/foods/index19.html>
6. 安江正明ら：通年性アレルギー性鼻炎患者を対象とした「べにふうき」緑茶の抗アレルギー作用並びに安全性評価，日本臨床栄養学会誌，**27**(1)，33-51，2005.
7. 安江正明ら：「べにふうき」緑茶の抗アレルギー作用並びに安全性評価：軽症から中等症の通年性アレルギー性鼻炎患者，並びに健常者を対象として，日本食品新素材研究会誌，**8**(2)，65-80，2005.
8. S. Masuda *et al.*: 'Benifuuki' green tea containing O-methylated catechin reduces symptoms of Japanese cedar pollinosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Allergology International*, **63**:211-217, 2014.
9. 届出詳細情報（消費者庁）：http://www.caa.go.jp/foods/todoke_51-75.html
10. M. Maeda-Yamamoto *et al.*: O-methylated catechins from tea leaves inhibit multiple protein kinases in mast cells. *Journal of Immunology*, **172**: 4486-4492, 2004.
11. Y. Fujimura *et al.*: Antiallergic Tea Catechin, (-)-Epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate, Suppresses FcεpsilonRI Expression in Human Basophilic KU812 Cells. *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 5729-5734, 2002.
12. Y. Fujimura *et al.*: The 67kDa laminin receptor as a primary determinant of anti-allergic effects of O-methylated EGCG. *BBRC*, **364**: 79-85, 2007.
13. H. Imbe *et al.*: "Benifuuki" green tea, containing O-methylated EGCG, reduces serum low-density lipoprotein cholesterol and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands containing apolipoprotein B: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J. Functional Foods*, **25**: 25-37, 2016.
14. M. Sugiura *et al.*: High Serum Carotenoids Associated with Lower Risk for Bone Loss and Osteoporosis in Post-Menopausal Japanese Female Subjects: Prospective Cohort Study, *PLOS ONE*, **7**(12): e52643, 2012.
15. M. Sugiura *et al.*: High serum carotenoids are inversely associated with serum gamma-glutamyltransferase in alcohol drinkers within normal liver function. *J Epidemiol*, **15**: 180-186, 2005.
16. M. Nakamura *et al.*: High beta-carotene and beta-cryptoxanthin are associated with low pulse wave velocity. *Atherosclerosis*, **184**: 363-369, 2006.
17. M. Sugiura *et al.*: Associations of serum carotenoid concentrations with the metabolic syndrome: interaction with smoking. *Br J Nutr*, **100**: 1297-1306, 2008.
18. M. Sugiura *et al.*: The homeostasis model assessment-insulin resistance index is inversely associated with serum carotenoids in non-diabetic subjects. *J Epidemiol*, **16**: 71-78, 2006.
19. 届出詳細情報（消費者庁）：http://www.caa.go.jp/foods/todoke_76-100.html
20. 農産物の有する機能性やその関与成分に関する知見の収集・評価（農水省）：<http://www.s.affrc.go.jp/docs/kinousei/kinkyuutaiauSR.htm>
21. 機能性を持つ農林水産物・食品開発プロジェクト（農研機構）：http://www.naro.affrc.go.jp/project/f_foodpro/index.html
22. 農産物9品目の研究レビュー（届出様式作成例）（農研機構）：http://www.naro.affrc.go.jp/project/f_foodpro/2016/063236.html
23. 農林水産物の機能性表示に向けた技術的対応について（農水省）：http://www.s.affrc.go.jp/docs/kinousei_pro/reference.htm

リグナン腸内細菌代謝産物 エンテロラクトンの機能性

矢ヶ崎 一三 (YAGASAKI Kazumi) *

* 宇都宮大学バイサイエンス教育研究センター

Key Words : リグナン エンテロラクトン 腸内細菌 がん 糖尿病 筋肉細胞

はじめに

リグナンはポリフェノールの範疇に含まれ、アマ、ゴマ、ライムギなどに、野菜ではケール、ブロッコリー、キャベツなどに、果物ではアンズやイチゴに多く含まれる¹⁾。植物体中でピノレシノール、ラリシレシノールを経てセコイソラリシレシノール、さらにマタイレシノールへ

と変換し、これらを食すると腸内細菌によってママリアンリグナン (エンテロリグナン) と称されるエンテロジオールそして最終的にエンテロラクトン (Enterolactone, ENL) となり¹⁾ (図1)、腸管から体内へ移行して多様な機能性ないし薬理作用を発揮すると考えられている^{1,2)}。なお、「リグニン」をラットへ経口投与しても ENL へ

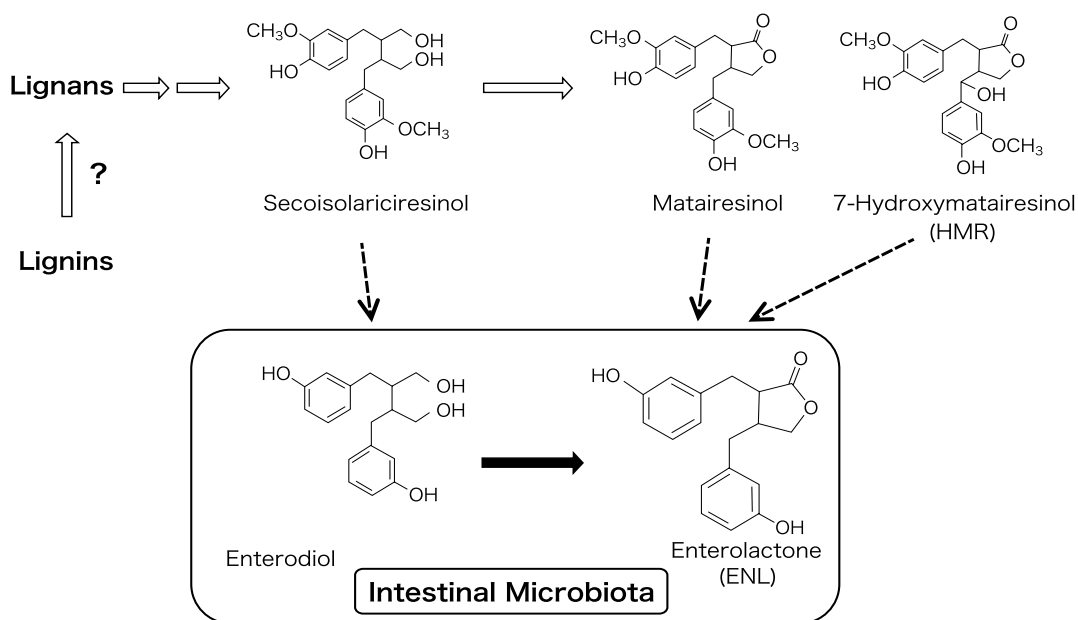


図1 植物中と腸内細菌によるリグナンの代謝 (文献 1, 3, 10 を参考に作成)

と変換されて尿中へ排泄されることが報告されている³⁾。

近年、食—腸内細菌（叢）—健康との関係に多様な観点から高い関心が寄せられている^{2, 4-7)}。例えば、リグナンの腸内細菌による ENL への変換能に関しては、抗生物質の使用により、血漿中の ENL 濃度の低下がヒト研究で示されている²⁾。ヨーロッパとくに北欧ではライムギパンや夏イチゴの消費が多いためか、リグナンの研究が日本と比較して活発に展開されている感がある。例えば、リグナン含量のわかっているイチゴ食を摂取したヒトにおいて、ENL の血漿中濃度の上昇と尿への排泄量増加が認められる、というフィンランドの研究結果が報告されている⁸⁾。リグナンの一種ハイドロキシマタイレシノール (Hydroxymatairesinol, HMR) は、通常食されない植物たとえば針葉樹の枝の付け根 (knot) に多量に含まれ、ラットに経口投与すると ENL に変換されること⁹⁾、乳がん誘発モデルラットにおいてその発症が抑制されること^{9, 10)} が、フィンランドの Saarinen らによって報告されている。そこで本稿では、リグナンとその腸内細菌代謝産物 ENL の肝がんに対する作用、さらには ENL の 2 型糖尿病に対する作用について、筆者らの実験的研究例を中心に述べてみたい。

1. がん細胞の二大生物学的特性

正常細胞ではなく、がん細胞が有する二大生物学的特性として、無限増殖性と転移性が知られている。転移は多段階に渡る複雑な過程であるが、その中でも浸潤過程が重要かつ特徴的段階である。Miura らは、この二大特性を再現する系としてがん細胞の増殖能 (proliferation) 検定系と浸潤能 (invasion) 検定系を、肝がん細胞 AH109A を用いて構築した¹¹⁾。AH109A 細胞の増殖能は、核酸画分への [methyl-³H] thymidine の取り込みによる DNA 合成能あるいは WST 法による細胞数変化を指標とし評価した。浸潤能は、腸間膜から中皮細胞 (M 細胞) を初代培養して単層培養面がコンフルエン

ト (培養細胞が接着面いっぱい広がる状態) になったところへ AH109A を重層し、M 細胞単層下に潜り込んだ単位面積あたりの AH109A の数を計測して評価した。この二つの検定系 (バイオアッセイ系) を用いて、これまでに多くの食品由来物質の探索が行われている^{12, 13)}。

1-1. ハイドロキシマタイレシノール (HMR) の肝がん細胞に対する作用

ある国際学会で、筆者はフィンランド・トルク大学 (University of Turku) の Santti 教授および Saarinen 博士と出会った。これがきっかけとなり、我々の AH109A 細胞を用いるバイオアッセイ系で上述の HMR の作用を検討することとなった¹⁴⁾ (図 2)。フィンランドは森と湖の国として、白樺が豊かに繁る国である。そして、トルク大学の研究者がキシリトールを白樺から発見したことで有名である。一方、HMR は白樺ではなく Norway spruce (*Picea abies*) という針葉樹の枝の付け根 (特に inner knot) から豊富に得られる。

まず、培養肝がん細胞 AH109A に HMR を直接作用させたところ、増殖能も浸潤能も培地添加 HMR 濃度に依存して弱いながら有意に抑制された (図 2; HMR の *in vitro* 実験結果)。次に、HMR を一夜絶食したラットへゾンデで経口投与後、継時的 (0, 1, 2, 3, 6, 12, 24 時間後) に血液を採取し血清 (RS) を調製した。この血清を肝がん細胞の増殖能および浸潤能検定系のウシ血清の代わりに培地へ添加して効果を検討したところ、経口投与 1 時間後から作用を示し始め、3 時間後には増殖能および浸潤能ともに有意に低下させた (図 2; HMR の *ex vivo* 実験 1)。そこで、HMR 経口投与 3 時間後に採血することとして投与量—作用反応を検討したところ、増殖能、浸潤能ともに 150 mg/kg 体重の投与後に得られた RS で最大の抑制効果が認められた (図 2; HMR の *ex vivo* 実験 2)。このことは、HMR をラットへ投与した場合にも有効であることを強く示唆した。一般的に、*in vitro* 実験で有効であっても、個体レベル (*in vivo*) で有

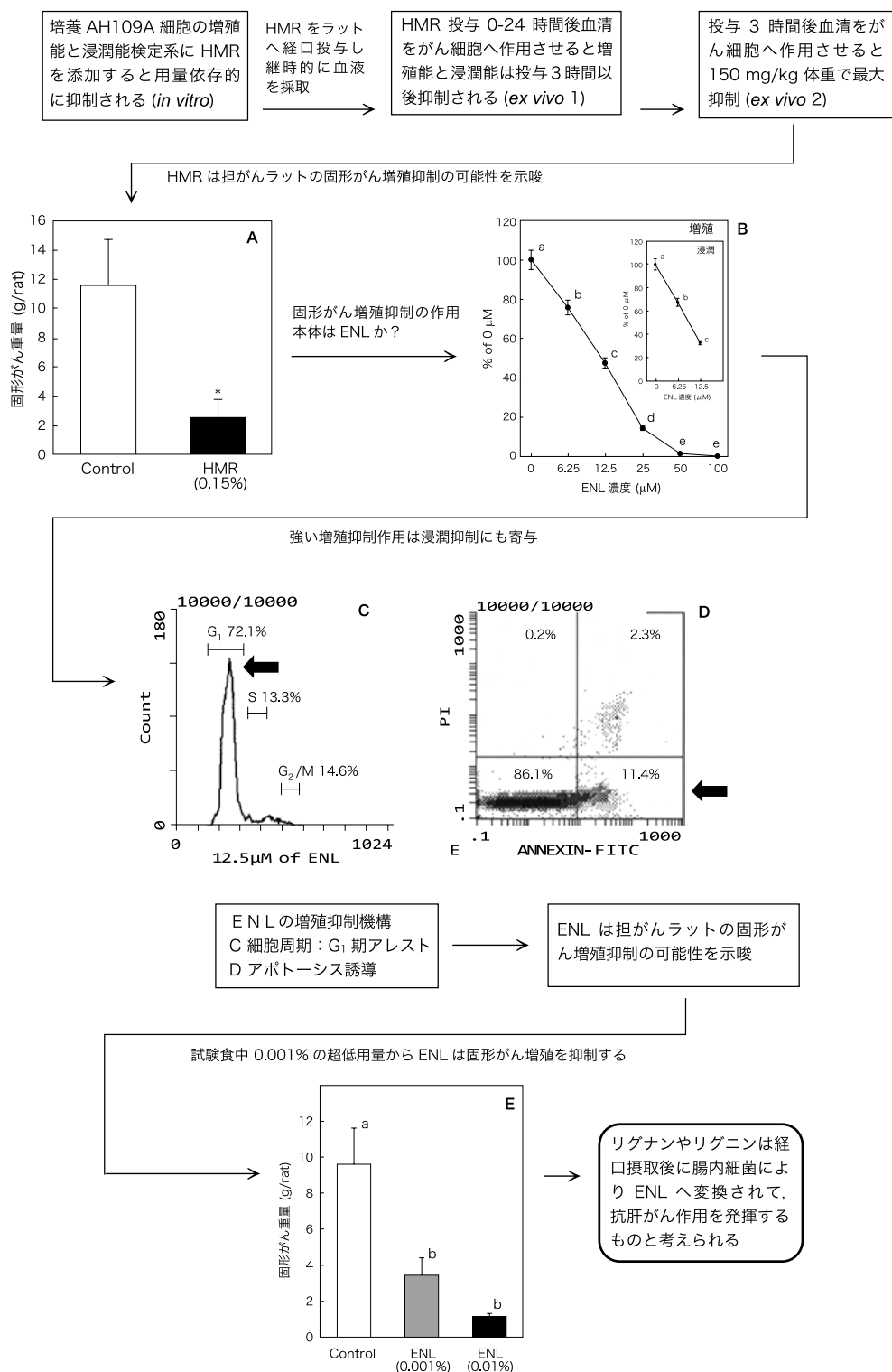


図2 肝がん細胞 AH109A の増殖・浸潤・固形がん増殖に対する HMR と HMR 投与後ラット血清および ENL の作用の概略 (データは Mean ± SEM。異なるアルファベットを付してある数値間では有意差がある ($P < 0.05$)。文献 14 を基に改変作成)

効であるとは限らないので、*ex vivo* 実験が行える場合は実施して *in vivo* での有効性の有無について見通しを立てるのが賢明といえる。貴重な検体の場合は特にそうである。また、上記 *ex vivo* 実験の結果 (150 mg/kg 体重) から、*in vivo* 実験での投与量設定にも役立つ。ここでは AIN-93G 処方¹⁵⁾ の 20% カゼイン基本食 (20C) へ 0.15% の HMR を添加し、肝がん細胞皮下移植ラットへ 2 週間摂取させ、形成される固形がんの重量 (= 増殖の指標) を測定したところ、HMR は固形がん重量を対照群の約 5 分の 1 にまで有意に低下させた (図 2A; HMR の *in vivo* 実験)。HMR をラットに経口投与すると、血清と尿中に ENL とともに HMR も出現することが報告されている¹⁶⁾。したがって HMR は消化管上部で直接吸収され、ENL よりは弱い HMR そのものも有効性を発揮すると考えられる。

1-2. エンテロラクトン (ENL) の肝がん細胞および担癌ラットに対する作用

次に ENL の作用について述べる。ENL を培養 AH109A 細胞に直接作用させると、増殖能、浸潤能ともに強く抑制された (図 2B)。増殖能と浸潤能の 50% 抑制濃度 (IC₅₀) はそれぞれ 10 μ M と 9 μ M であった。また、正常細胞として浸潤能検定に利用する M 細胞を選び、その増殖に対する ENL の作用を検討したところ、6 μ M 付近までは肝がん細胞 AH109A と同程度まで増殖を抑制したが、それ以上の濃度では、がん細胞ほど強くは抑制されなかった。次に、ENL の AH109A 細胞の増殖抑制機構を検討した。まず、ENL は細胞周期 (G₁-S-G₂-M-G₁...) のうち、G₁ 期アレストを起こして AH109A 細胞の分裂を用量依存的に抑制することが示唆された (図 2C; 矢印←)。次に、アポトーシス (プログラムされた細胞死) 誘導性について ANNEXIN V-PI 二重染色法によりフローサイトメトリーで解析したところ、Quadrant 4 (第 4 象限) に示される初期アポトーシス細胞の割合が用量依存的に増加することが認められた (図 2D; 矢印←)。すなわち、ENL は細胞周期 G₁

期アレストとともに、アポトーシスを誘導することによって肝がん細胞 AH109A の増殖を抑制するものと考えられた。

以上の *in vitro* の成績をもとに、*in vivo* 実験を行った。AIN-93G 処方の基本食 (20C) へ 0.001% あるいは 0.01% の ENL を添加し、肝がん皮下移植ラットへ 3 週間摂取させ、形成される固形がんの重量 (= 増殖の指標) を測定した。ENL は有意かつ用量依存的に固形がん増殖を抑制し、0.01% 投与群では対照群の 8 分の 1 以下まで劇的に固形がん増殖を阻害した (図 2E)。なお、対照群では 27% のラットで肝がんの転移が認められたが、投与両群では全く認められなかった。

ところで、正常ラットにくらべ肝がん移植ラットでは、異常な血清リポタンパク質パターンを示すことを見出している¹⁷⁾。すなわち、高密度リポタンパク質 - コレステロール (HDL-Ch) の低下と超低密度 + 低密度リポタンパク質 (VLDL+LDL)-Ch の顕著な上昇がみられ、その結果総コレステロール (T-Ch) の上昇が認められる。また、トリグリセリド (TG) や過酸化脂質 (TBARS) 濃度も上昇する。ENL 投与により担がん時の HDL-Ch 低下の用量依存的な上昇傾向、(VLDL+LDL)-Ch の有意な低下、その結果として脈硬化指数とされる (VLDL+LDL)-Ch/HDL-Ch 比の低下傾向が認められた (図 3A)。ENL 投与により、糞中への中性ステロールと胆汁酸の有意な排泄促進作用が認められ (図 3B)、血清 (VLDL+LDL)-Ch 濃度低下機構の一つとして関与しているものと考えられる。

このように HMR やその腸内細菌代謝物 ENL は、日本や東アジアに多い肝がん細胞の増殖や浸潤・転移に対し抑制的に働くことが示唆された。がん細胞は発生しないことが理想である。たとえ発生したとしても細胞数が少なく発見不可能な未病状態の時に、食品から摂取できるリグナンやその腸内細菌代謝物によってがん細胞を「退治」し、未病を本当の病気にしないことは、不可能ではないと考えられる。

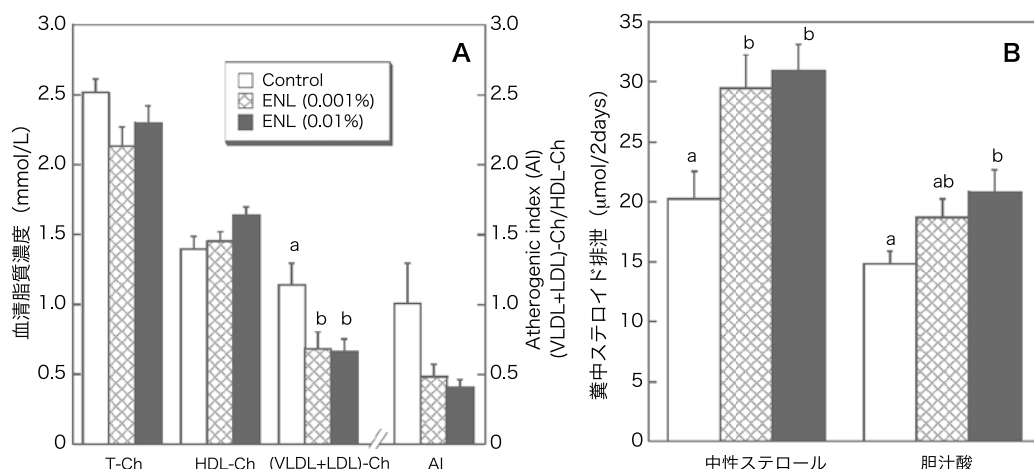


図3 胆肝がんラットの血清コレステロール分配 (A) および糞へのステロイド排泄 (B) に対する ENL の作用 (データは Mean ± SEM. 異なるアルファベットを付してある数値間では有意差がある ($P < 0.05$)). 文献 14 を基にデータを追加して作成)

2. 世界的に増加しつつある糖尿病

国際糖尿病連合 (IDF) の推定によれば、世界の糖尿病患者数は 2015 年の 4.15 億人 (2015) から 25 年後には 6.42 億人 (2040) に増加するとされている。糖尿病は大別して 1 型と 2 型があるが、我が国においては、95% が 2 型糖尿病であると言われている。

筋肉は体の中で最大の組織であり、血糖 (グルコース) を吸収して食後血糖値の速やかな正常化に大きく貢献している。既に本誌でも述べたように¹⁸⁾、筆者らは培養筋肉細胞を用いて筋細胞内へのグルコース取り込み能検定系を構築し、ポリフェノールをはじめとする多くの食品成分の作用をスクリーニングしている。さらに 2 型糖尿病モデルマウスにおける作用確認と作用機構の検討を行っている¹⁹⁾。

2-1. 筋細胞におけるグルコース取り込み促進機構

グルコースが筋肉細胞の中へ取り込まれるためにはグルコース輸送体 4 (GLUT4) が細胞膜へ移行する必要がある。この GLUT4 を細胞質から細胞膜へ移行させるシグナル伝達経路にはインスリン受容体を介するインスリン経路と、5'-denosine monophosphate-activated protein kinase

(AMPK) を介する AMPK 経路が知られている。したがって、この両者またはどちらかの経路を活性化すれば筋肉細胞内へのグルコース取り込みが促進することになる。

筆者らの考案したグルコース取り込み能検定系はインスリン非存在下で行うので、そのほとんどが AMPK 経路を介するものであった¹⁹⁾。そのような食品成分としては、ルイボス茶抽出物とその主要ポリフェノールであるアスパラチン²⁰⁻²³⁾、スチルベノイドのレスベラトロール²⁴⁾とピセアタンノール²⁵⁾、大豆のイソフラボンであるゲニステイン²⁶⁾、ダイゼイン²⁷⁾ およびその腸内細菌代謝物エクオール²⁸⁾、沖縄方面に多い植物であるギシギシの成分ネボディン²⁹⁾、生姜成分のジンゲロール³⁰⁾ を見だし、2 型糖尿病モデル (db/db, ob/ob, KK-A^y) マウスにおいて個体レベルでの作用とその機構を検討した。この中では、ダイゼインとエクオールの関係が、リグナンとエンテロラクトンのそれに相当する。

2-2. エンテロラクトン (ENL) の L6 筋細胞および 2 型糖尿病マウスに対する作用解析

図 4 に ENL の諸作用をまとめて示した。L6 筋管細胞のグルコース取り込み能 (glucose

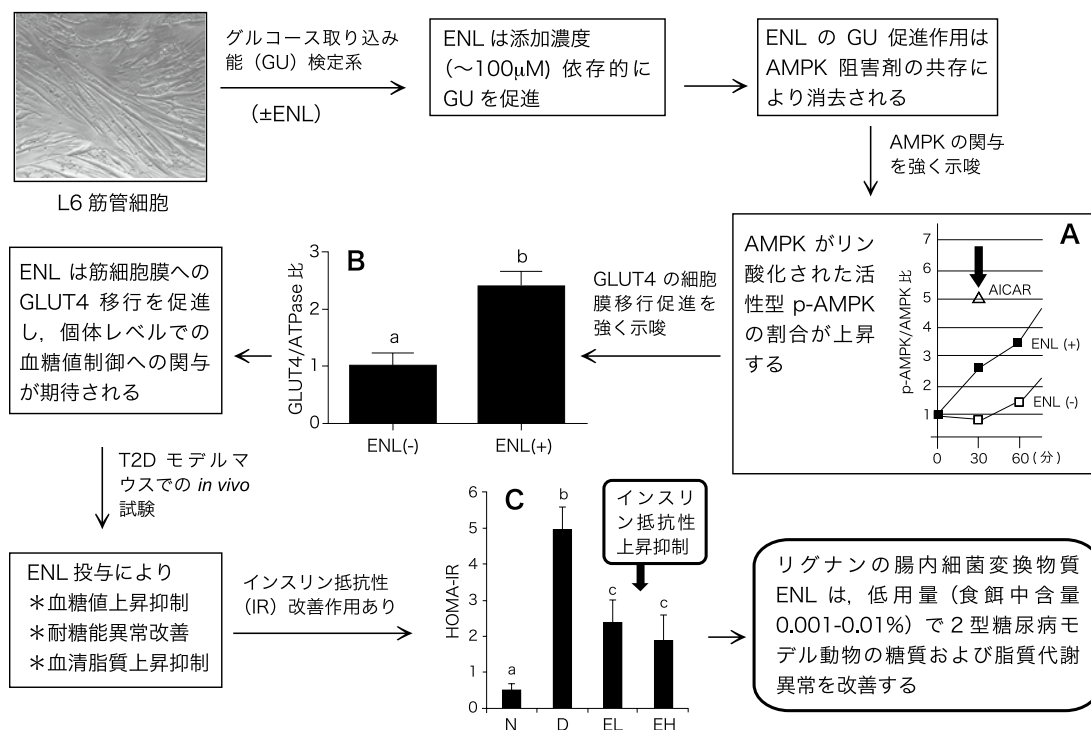


図4 L6筋細胞のグルコース代謝とT2DモデルマウスにおけるENL作用の概略

(データはMean ± SEM. 異なるアルファベットを付してある数値間では有意差がある (P < 0.05)。文献 19, 31 を基に改変作成)

uptake, GU) に対して ENL は無添加時 (0 μM) に比べ 25 μM で有意に、100 μM まで添加濃度依存的に促進した。そこで ENL 濃度を 50 μM とし、このとき上昇する GU を AMPK 阻害剤 Compound C (10 μM) が消去するかどうかを検討したところ、ENL に起因する GU 上昇分は完全に消去された。このことは、ENL の GU 促進作用に AMPK が関与することを強く示唆したので、活性化 (= リン酸化) された p-AMPK の全 AMPK に対する比 (p-AMPK/AMPK) を Western blot (WB) 法で検討した。この時 ENL 濃度は 0 または 50 μM とし、経分的に作用させた。また、陽性対照として AICAR (1 mM) を 30 分作用させた。作用 30 分後の結果を見ると、p-AMPK/AMPK 比は ENL 無添加 (□) では上昇してないのに対して、ENL (■) および AICAR (△) を作用させた細胞では約 3 ないし 5 倍に上昇していた (図 4A)。すなわち、ENL は AMPK 経路活性化を介して GLUT4 を

細胞膜へ移行させ、GU を促進したことを推測させた。そこで細胞膜画分を調製して WB 法で検討したところ、GLUT4 の細胞膜への移行を促進させることが明らかとなった (図 4B)。ここには示していないが、L6 筋芽細胞へ *glut4* expression vector (pFN21-A rat *glut4*) を導入して GLUT4 を強制発現させ、免疫細胞化学的に視覚化した場合でも、GLUT4 が細胞膜領域へ移行していることを確認している³¹⁾。したがって、ENL が血流へ入り筋肉組織へ達すれば、GLUT4 の細胞膜移行を促進させ、血中グルコースを吸い込んで食後血糖値の上昇を速やかに正常化するものと考えられた。実際、2 型糖尿病モデル db/db マウスへ ENL を経口投与すると、低用量 (飼料へ 0.001% あるいは 0.01% 添加) で血糖上昇を抑制するとともに、耐糖能異常も改善し、さらに血清脂質 (TG, TBARS) の上昇を抑制した。また、正常マウス (N) に比べ無処理 db/db マウス (D) では重篤なインスリン

抵抗性 (insulin resistance, IR) を示した。しかし、0.001% (EL) ないし 0.01% (EH) の ENL 投与によってこの重篤な IR 状態を有意に軽減化した (図 4C)。

このように、実験動物レベルではあるが ENL は低用量で 2 型糖尿病の諸症状を改善することが明らかとなった。近年、ヒトにおいてもリグナン代謝物とくに ENL と 2 型糖尿病発症リスク低下との間に相関性のある可能性が報告されている³²⁾。

おわりに

本稿では、穀類はじめイチゴなど果菜を含む多様な植物性食品に含まれ、日常的に摂取されているリグナンの腸内細菌代謝産物 ENL に焦点を絞り、細胞と動物個体レベルでの抗癌および抗糖尿病作用について述べてきた。腸内細菌 (叢) の保健作用における役割の重

要性は、ますます高まっている。食習慣、食文化の違いにより、ダイゼインからエクオールを作れないヒトがいるように、リグナンから ENL への変換が十分でないヒトもいると考えられる。ダイゼインからの腸内細菌代謝産物エクオールと同様²⁸⁾、ENL もその前駆体よりかなり低い用量で抗癌¹⁴⁾ ないし抗糖尿病³¹⁾ 作用を示すことが期待される。リグナンそしてリグニンから ENL への変換を効率よく行えるヒト由来腸内細菌が見出されることを期待して結びとしたい。

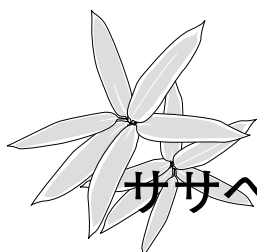
謝辞

本研究の一部は、文部科学省地域イノベーション戦略支援プログラムおよび独立行政法人日本学術振興会科学研究費 (15K07424) の助成によって行われたものである。この場をお借りして深謝申し上げます。

参考文献

1. 畑 直樹, 岡澤敦司, 小林昭雄, 食品中リグナンの摂取と機能—リグナン研究の最新動向—, 農業および園芸, **83**(6):649-656, 2008.
2. Bolvig AK, Kyrø C, Nørskov NP, Eriksen AK, Christensen J, Tjønneland A, Knudsen KE, Olsen A. Use of antibiotics is associated with lower enterolactone plasma concentration. *Mol Nutr Food Res*. in press, 2016. doi: 10.1002/mnfr.201600566.
3. Begum AN, Nicolle C, Mila I, Lapierre C, Nagano K, Fukushima K, Heinonen SM, Adlercreutz H, Rémésy C, Scalbert A. Dietary lignins are precursors of mammalian lignans in rats. *J Nutr*. **134**(1):120-127, 2004.
4. Arbolea S, Watkins C, Stanton C, Ross RP. Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. *Front Microbiol*. **7**:1204, 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01204. eCollection 2016. Review.
5. Li D, Wang P, Wang P, Hu X, Chen F. The gut microbiota: A treasure for human health. *Biotechnol Adv*. **34**(7): 1210-1224, 2016.
6. Gaya P, Medina M, Sánchez-Jiménez A, Landete JM. Phytoestrogen Metabolism by Adult Human Gut Microbiota. *Molecules*. **21**(8). pii: E1034, 2016. doi: 10.3390/molecules21081034.
7. Scholz-Ahrens KE, Adolphi B, Rochat F, Barclay DV, de Vrese M, Açı Y, Schrezenmeier J. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on mineral metabolism in ovariectomized rats — impact of bacterial mass, intestinal absorptive area and reduction of bone turn-over. *NFS Journal*. **3**: 41-50, 2016.
8. Mazur WM, Uehara M, Wähälä K, Adlercreutz H. Phyto-oestrogen content of berries, and plasma concentrations and urinary excretion of enterolactone after a single strawberry-meal in human subjects. *Br J Nutr*. **83**(4):381-387, 2000.
9. Saarinen NM, Wärrä A, Mäkelä SI, Eckerman C, Reunanen M, Ahotupa M, Salmi SM, Franke AA, Kangas L, Santti R. Hydroxymatairesinol, a novel enterolactone precursor with antitumor properties from coniferous tree (*Picea abies*). *Nutr Cancer*. **36**(2):207-216, 2000.
10. Saarinen NM, Wärrä A, Airio M, Smeds A, Mäkelä S. Role of dietary lignans in the reduction of breast cancer risk. *Mol Nutr Food Res*. **51**(7):857-66, 2007. Review.
11. Miura Y, Shiomi H, Sakai F, Yagasaki K. Assay systems for screening food components that have anti-proliferative

- and anti-invasive activity to rat ascites hepatoma cells: *In vitro* and *ex vivo* effects of green tea extract. *Cytotechnology*. **23**(1-3):127-132, 1997.
12. 矢ヶ崎一三：病態モデルによる食品因子の作用に関する栄養学的・食理学的研究．日本栄養・食糧学会誌，**62**(2): 61-74, 2009.
 13. Dewi NI, Yagasaki K, Miura Y. Anti-proliferative effect of pterostilbene on rat hepatoma cells in culture. *Cytotechnology*. **67**(4):671-680, 2015.
 14. Miura D, Saarinen NM, Miura Y, Santti R, Yagasaki K. Hydroxymatairesinol and its mammalian metabolite enterolactone reduce the growth and metastasis of subcutaneous AH109A hepatomas in rats. *Nutr Cancer*. **58**(1):49-59, 2007.
 15. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. **123**(11):1939-1951, 1993.
 16. Saarinen NM, Huovinen R, W  ri A, Mäkelä SI, Valentin-Blasini L, Needham L, Eckerman C, Collan YU, Santti R. Uptake and metabolism of hydroxymatairesinol in relation to its anticarcinogenicity in DMBA-induced rat mammary carcinoma model. *Nutr Cancer*. **41**(1-2):82-90, 2001.
 17. Miura D, Ito Y, Mizukuchi A, Kise M, Aoto H, Yagasaki K. Hypocholesterolemic action of pre-germinated brown rice in hepatoma-bearing rats. *Life Sci*. **79**(3):259-264, 2006.
 18. 矢ヶ崎一三：ファイトケミカルの糖尿病・糖代謝に対する作用とその機構，*New Food Industry*, **56**(2): 1-12, 2014.
 19. Yagasaki K. Anti-diabetic phytochemicals that promote GLUT4 translocation via AMPK signaling in muscle cells. *Nutr Aging*. **2**(1):35-44, 2014.
 20. Kawano A, Nakamura H, Hata S, Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K. Hypoglycemic effect of aspalathin, a rooibos tea component from *Aspalathus linearis*, in type 2 diabetic model db/db mice. *Phytomedicine*. **16**(5):437-443, 2009.
 21. Son MJ, Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K. Aspalathin improves hyperglycemia and glucose intolerance in obese diabetic ob/ob mice. *Eur J Nutr*. **52**(6):1607-1619, 2013.
 22. Kamakura R, Son MJ, de Beer D, Joubert E, Miura Y, Yagasaki K. Antidiabetic effect of green rooibos (*Aspalathus linearis*) extract in cultured cells and type 2 diabetic model KK-Ay mice. *Cytotechnology*. **67**(4):699-710, 2015.
 23. Muller CJ, Malherbe CJ, Chellan N, Yagasaki K, Miura Y, Joubert E. Potential of Rooibos, its Major C-Glucosyl Flavonoids and Z-2-(  -D-Glucopyranoloxo)-3-phenylpropenoic acid in Prevention of Metabolic Syndrome. *Crit Rev Food Sci Nutr*. in press, 2016. doi:10.1080/10408398.2016.1157568
 24. Minakawa M, Kawano A, Miura Y, Yagasaki K. Hypoglycemic effect of resveratrol in type 2 diabetic model db/db mice and its actions in cultured L6 myotubes and RIN-5F pancreatic   -cells. *J Clin Biochem Nutr*. **48**(3):237-244, 2011.
 25. Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K. Piceatannol, a resveratrol derivative, promotes glucose uptake through glucose transporter 4 translocation to plasma membrane in L6 myocytes and suppresses blood glucose levels in type 2 diabetic model db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun*. **422**(3):469-475, 2012.
 26. Ha BG, Nagaoka M, Yonezawa T, Tanabe R, Woo JT, Kato H, Chung UI, Yagasaki K. Regulatory mechanism for the stimulatory action of genistein on glucose uptake in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem*. **23**(5):501-509, 2012.
 27. Cheong SH, Furuhashi K, Ito K, Nagaoka M, Yonezawa T, Miura Y, Yagasaki K. Daidzein promotes glucose uptake through glucose transporter 4 translocation to plasma membrane in L6 myocytes and improves glucose homeostasis in Type 2 diabetic model mice. *J Nutr Biochem*. **25**(2):136-143, 2014.
 28. Cheong SH, Furuhashi K, Ito K, Nagaoka M, Yonezawa T, Miura Y, Yagasaki K. Antihyperglycemic effect of equol, a daidzein derivative, in cultured L6 myocytes and ob/ob mice. *Mol Nutr Food Res*. **58**(2):267-277, 2014.
 29. Ha BG, Yonezawa T, Son MJ, Woo JT, Ohba S, Chung UI, Yagasaki K. Antidiabetic effect of nepodin, a component of Rumex roots, and its modes of action in vitro and in vivo. *Biofactors*. **40**(4):436-447, 2014.
 30. Son MJ, Miura Y, Yagasaki K. Mechanisms for antidiabetic effect of gingerol in cultured cells and obese diabetic model mice. *Cytotechnology*. **67**(4):641-652, 2015.
 31. Zhou F, Furuhashi K, Son MJ, Toyozaki M, Yoshizawa F, Miura Y, Yagasaki K. Antidiabetic effect of enterolactone in cultured muscle cells and in type 2 diabetic model db/db mice. *Cytotechnology*. in press, 2016. doi: 10.1007/s10616-016-9965-2
 32. Sun Q, Wedick NM, Pan A, Townsend MK, Cassidy A, Franke AA, Rimm EB, Hu FB, van Dam RM. Gut microbiota metabolites of dietary lignans and risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in two cohorts of U.S. women. *Diabetes Care*. **37**(5):1287-1295, 2014.



ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性

Prominent antiviral activity of Sasahealth

福地 邦彦 (FUKUCHI Kunihiko)¹ 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)² 安井 利一 (YASUI Toshikazu)²
金本 大成 (KANAMOTO Taisei)³ 寺久保 繁美 (TERAKUBO Shigemi)³ 中島 秀喜 (NAKASHIMA Hideki)³
勝呂 まどか (SUGURO Madoka)⁴ 名取 威徳 (NATORI Takenori)⁴ 大泉 浩史 (OIZUMI Hiroshi)⁴
大泉 高明 (OIZUMI Takaaki)⁴

¹ 昭和大学大学院 ² 明海大学歯学部 ³ 聖マリアンナ医科大学 ⁴ 株式会社大和生物研究所

Key Words : クマザサ葉抽出液 ササヘルス 抗ウイルス活性 HIV HSV 併用効果 AZT アシクロビル

要約

クマザサ葉アルカリ抽出液 (ササヘルス[®]) は、ポリメトキシフラボノイド類、低分子性ポリフェノール類や茶葉抽出物と比較して、高い抗ウイルス活性を示した。ササヘルス[®] はアジドチミジン、ジオキシシチジン、デキストラン硫酸、カードラン硫酸の抗ヒト免疫不全ウイルス活性や、アシクロビルの抗単純ヘルペスウイルス活性を相乗的に促進した。ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性は、ウイルスが関与する様々な口腔疾患に有効である可能性が示唆された。

SUMMARY

Alkaline extract of the leaves of *Sasa senanensis* Rehder (Sasahealth[®]) (SE) showed higher antiviral activity as compared with polymethoxyflavonoids, lower molecular weight polyphenols and various tea leaf extracts. SE synergistically enhanced the anti-HIV activity of azidothymidine, 2',3'-dideoxycytidine, dextran sulfate and curdlan sulfate, and anti-HSV activity of acyclovir. Prominent antiviral activity of SE suggests its possible application to virally induced oral diseases.

1. ササヘルスとは

イネ科の植物であるクマイザサ (学名 *Sasa Senanensis* Rehder) は、本邦において、北海道、本州、四国、九州の山岳地帯等に多く自生している。クマ笹およびその近縁植物の葉は、中国の漢方生薬古典である『本草綱目』に吐血、衄血 (じくけつ)、咯血、下血に効あり、排尿、肺気、喉痺 (こうひ) を利し、癰腫 (ようしゅ) を消すとの記載がみられる。また本邦における『和方一万方』『掌中妙薬集』『諸病薬記』などにも、口臭、血の道、たむしなどに対する効用が記載されている。

株式会社大和生物研究所は、クマ笹の葉を原

料とした一般用医薬品「ササヘルス」(第3類医薬品 効能効果: 疲労回復, 食欲不振, 口臭, 体臭除去, 口内炎) の製造・販売を一貫して行っている。ササヘルスは、クマザサの葉より樹脂分を除去した後、含有するクロロフィル中の Mg^{2+} を、 Fe^{2+} に置換して安定化した後、希水酸化ナトリウム溶液にて加熱加水分解した液を、中和して得られる。ササヘルス 100 mL には、約 5.82g の凍結乾燥粉末が含まれている。ササヘルスは、リグニン配糖体と同様に、アルカリ溶液で抽出されるため、リグニン配糖体と幾つかの共通の生物活性を示す。

表1 ササヘルスの多彩な生物作用

ササヘルスの機能と応用	参考文献
総説, 多様な生物作用	1, 6, 7, 12, 14, 15, 19, 20, 23
抗ウイルス活性	2, 24
抗菌活性	2, 4
ラジカル消去作用, 抗酸化作用	2
抗炎症作用	3, 4, 5, 9, 13
紫外線に対する細胞保護作用	8, 10, 11, 18, 23
成分分析	10, 12, 18
クマザサ葉抽出物を原料にした製品の生物活性の比較	14, 15, 16
口腔疾患の治療	16, 17
歯磨剤の開発	20, 21, 22

2. ササヘルスに関する我々のこれまでの研究

我々はササヘルスの薬理作用および臨床応用の可能性について検討している¹⁻²⁴⁾ (表1)。ササヘルスは、防腐作用、膜の安定化、抗炎症作用、貪食作用、ラジカル消去作用、抗酸化作用、抗菌作用、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用、そして、リグニンと共通の作用（卓越した抗ウイルス作用、紫外線に対する細胞保護作用、ビタミンCとの相乗作用）などの多彩な生物作用を示す。また、ササヘルスの長期投与により、口腔扁平苔癬異形成症の患者の症状を緩和し、唾液中の炎症性サイトカイン interleukin-6 (IL-6)、IL-8 の濃度を有意に減少させ¹⁷⁾、口臭を緩和させた^{21, 22)}。最近、ササヘルスは、トリシンなどのポリメトキシフラボノイド類よりも、高い抗 HIV および抗 HSV 活性を示すこと、臨床で使用されている抗ウイルス剤と相乗効果を示すこと²⁴⁾を見出した。

3. ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性

(a) 抗 HIV 活性:

抗ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 活性を定量化するためには、非感染細胞に対する 50% 傷害濃度 (CC_{50})、そして、HIV 感染細胞の生存率を無処理の非感染細胞の 50% まで復帰させる濃度 (EC_{50}) の値を得ることが必要である。これらの値より、選択係数 SI ($SI=CC_{50}/EC_{50}$) が計算できる。SI 値を指標にして、天然物質

や有機合成化合物の抗 HIV 活性を網羅的に検討した。その結果、ササヘルスは、天然物の中では、最大級の抗 HIV 活性 ($SI=36 \sim 80$) を示すことが判明した。これに対して、5 種類のメトキシフラボノイド類 (トリシン, 3, 3', 4', 5, 6, 7, 8-ヘプタメトキシフラボン, ノビレチン, タンゲレチン, スダチチン) は細胞毒性が強く、抗 HIV 活性を検出することができなかった ($SI<1$) (表2)。同様に、フラボノイド類 ($SI<1$)^{25, 26)}、タンニン関連化合物 ($SI=0 \sim 11$)²⁷⁾、ササヘルスに含まれる *p*-クマル酸 ($SI<1$)²⁸⁾、カルボキシ基、ジメチルアミノエチル基あるいはジエチルアミノエチル基を導入して水溶性化したパラミロン (ミドリムシ由来水不溶性グルカン) ($SI<1$)²⁹⁾、漢方製剤および構成生薬類 ($SI=1 \sim 1.3$)³⁰⁾ の抗 HIV 活性は低いことが判明した (表2)。

(b) 抗 HSV 活性

ササヘルスが HSV-1 によるプラーク形成を抑制することを確認した (図1)。HSV-1 感染により Vero 細胞は、変性しプラークを形成する。ササヘルスを 0.01 ~ 0.1% 添加することにより、細胞変性効果は完全に抑制された。しかし、0.3% までササヘルス濃度を上昇させると細胞が死んでしまった。この実験結果は、抗 HSV 活性の定量化には、薬効と細胞毒性を同時に計測する必要があることを示している。

次に、抗 HSV 活性の定量化について検討した。我々は以前、リグニン配糖体³¹⁾ やタンニン類³²⁾ の単純ヘルペスウイルス (HSV) の増

表2 各種生薬の抗 HIV 活性

	SI (=CC ₅₀ /EC ₅₀)	文献
ササヘルス	36	2, 7, 24
ササヘルスのリグニン配糖体画分	37 ~ 62	7
ササヘルスのルテオリン配糖体 (n=3)	2 ~ 7	12
フラボノイド類		
ポリメトキシフラボノイド類		
トリシン	<1	25
3,3',4',5,6,7,8- ヘプタメトキシフラボン	<1	25
ノビレチン	<1	25
タンゲレチン	<1	25
スダチチン	<1	25
甘草根フラボノイド (10 種)	<1	25
フラボノイド類 (160 種)	<1	26
タンニン類		
加水分解型タンニン単量体 (21 種) 二量体 (39 種)	<1	27
加水分解型タンニン三量体 (4 種)	3	27
加水分解型タンニン四量体 (3 種)	11	27
縮合型タンニン (8 種類)	<1	27
没食子酸	<1	27
エピガロカテキンガレート	<1	27
フェニルプロパノイド単量体		
p- クマル酸	<1	28
カルボキシル基 / ジエチルアミノ基導入パラミロン	<1	29
漢方製剤 (10 種) および構成植物抽出物 (25 種)	1 ~ 1.3	30
陽性対照		
AZT	8558	
ddC	905	

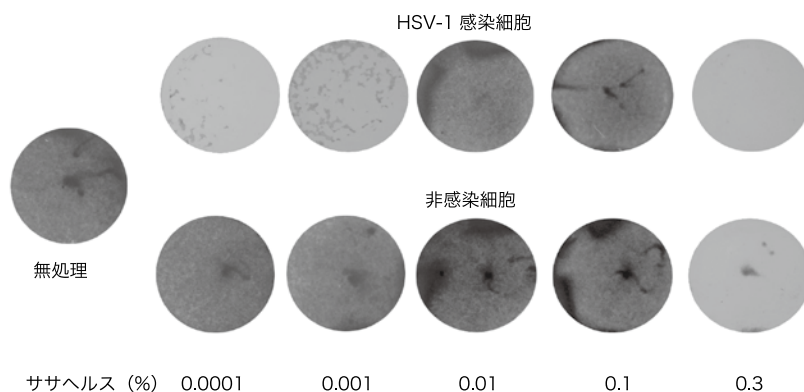


図1 ササヘルスの抗 HSV 効果

HSV-1 とササヘルスを混合して、20 分間放置後、Vero 細胞に感染させた (300 PFU/well)。ウイルス感染細胞を洗浄後、0.5%Bacto agar を含む MEM-10% fetal calf serum を上層し、3 日間培養後した。Agar を除去し、形成されたプラークを 0.25% クリスタル紫で染色した²⁴⁾。

殖に対する抑制効果を報告したが、細胞毒性を考慮した SI 値を計算していなかった。今回、SI 値を用いた定量法を新たに開発して、天然物質の抗 HSV 活性を網羅的に検討した^{24, 25)}。Vero 細胞の増殖に HSV 感染拡大が追いつかないため、4 日間の培養後でも 34.5 ± 9.9 (25.2 ~ 51.1) % の細胞が生き残ったものと思われる。実験間の生存率のバラツキは、まんべん

くウイルスが吸着しなかったことによると思われる (表 3)。そのため、以下の二つの方法を用いて EC₅₀ 値を求めることにした。方法 1 では、EC₅₀ は、HSV 感染により増殖抑制された点から、無処理の非感染細胞 (100%) にいたるまでの中間点まで復帰させるのに必要な濃度とした。方法 2 では、EC₅₀ は、非感染細胞で設定した CC₅₀ 値まで復帰させるのに必要な濃度と

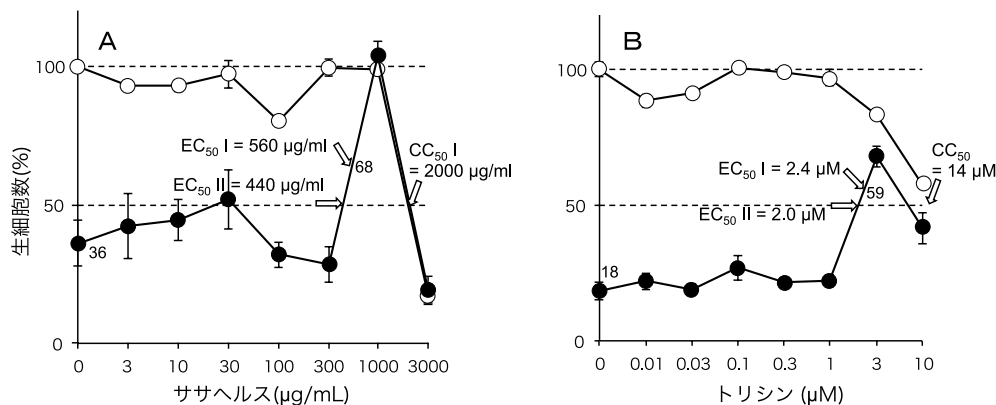


図 2 抗 HSV-1 活性の定量化

ササヘルスと異なり (A)、トリシンは、HSV-1 感染による生存率の低下を完全には復帰できなかった (B)。EC₅₀ 値は 2 通りの方法で求めた。○非感染細胞、●HSV 感染細胞

表 3 各種生薬の抗 HSV 活性^{24, 26)}

	感染後 生存率 (%)	CC ₅₀ 非感染 細胞	EC ₅₀ HSV 感染細胞		SI		生存率 の回復 (%)
			方法 1	方法 2	方法 1	方法 2	
ササヘルス (%)	38	0.25	0.054	0.033	4.6	7.6	93
ササヘルス (%)	25.2	0.45	0.052	0.044	8.7	10.2	100
ササヘルス (%)	36.1	0.2	0.056	0.044	3.6	4.5	100
ササヘルス (%)	50	0.3	0.076	0.048	3.9	6.3	89
ササヘルス (%)	28.9	0.5	0.054	0.044	9.3	11.4	100
ポリメトキシフラボノイド類							
トリシン (µM)	18.3	14	2.4	2	5.8	7.0	67
3,3',4',5,6,7,8-ヘプタメトキシフラボン (µM)	28.2	110	1000	100	<1	1.1	50
ノビレチン (µM)	21.6	10	>3000	>3000	<1	<1	42
タンゲレチン (µM)	32.9	140	>3000	>3000	<1	<1	45
スタチチン (µM)	36.3	18	>30	>30	<1	<1	42
ポリフェノール							
エビガロカテキンゲレート (µM)	29.3	70	>300	15	<1	4.7	62
クロロゲン酸 (µM)	33.3	2000	>3000	>3000	<1	<1	49
p-クマル酸 (µM)	41.5	660	>3000	>3000	<1	<1	69
クルクミン (µM)	51.1	19	10	ND	1.9	ND	75
レスペラトロール (µM)	47.1	21	>3000	7.4	<1	2.8	55

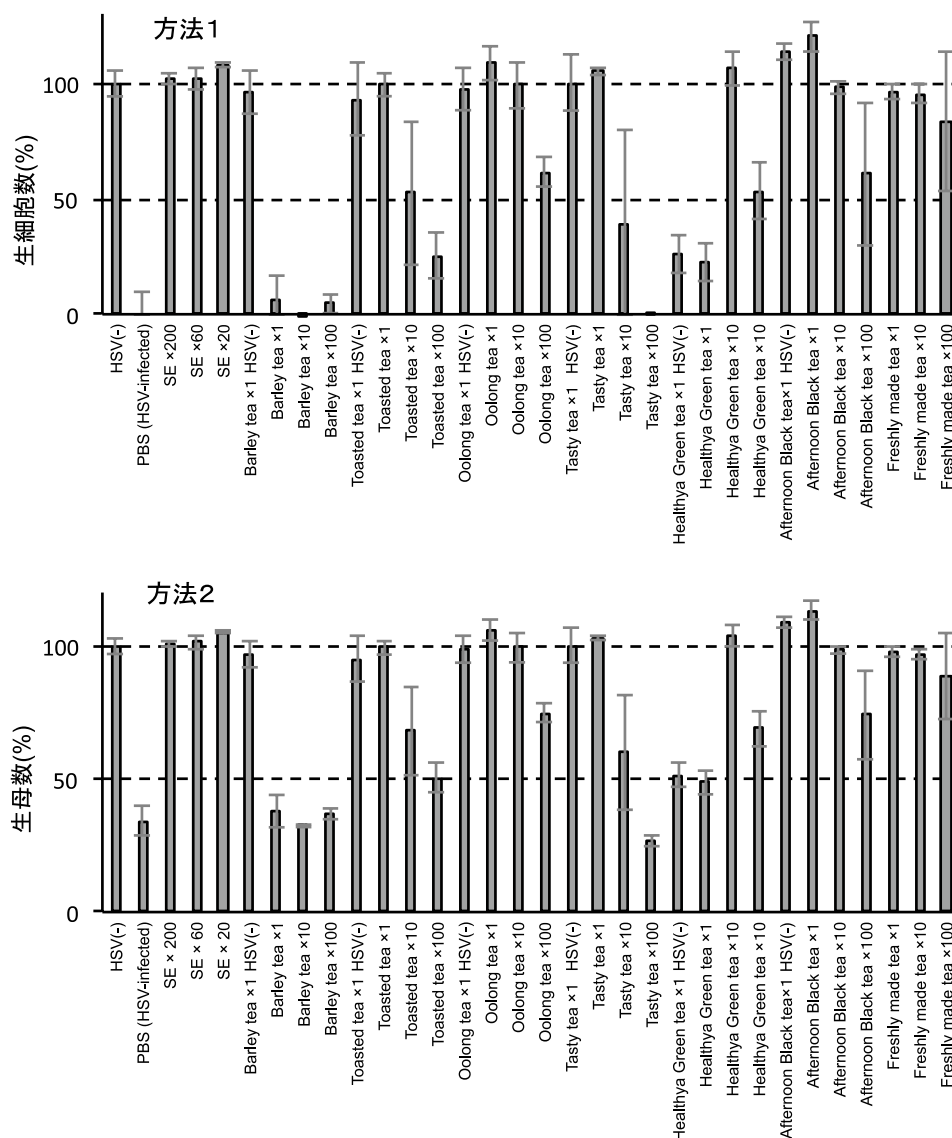


図3 コンビニエンスストアで購入したペットボトルのお茶とササヘルスの抗 HSV 活性の比較
お茶に塩化ナトリウムを加えて、浸透圧を CRYOSCOPIC OSMOMETER で等張 (280 mOsm) に合わせ、ミリポアフィルター濾過滅菌を行い、実験に使用した。ササヘルスは等張であるので塩化ナトリウムを添加する必要はない。EC₅₀ は方法 1 および方法 2 で測定した。PBS, リン酸緩衝液, ×1, 無希釈; ×10, 10 倍希釈, ×100, 100 倍希釈。各点は、3 検体の平均値 ± S.D. を示す。

した (図 2)。

ササヘルスの抗 HSV 活性は、方法 1 では、SI=6.0 ± 2.7 (3.6 ~ 9.3), 方法 2 では、SI=8.0 ± 2.8 (4.5 ~ 11.4) と計算された。ササヘルスの添加により、HSV 感染により低下した細胞の生存率を 96.4 ± 5.1 (89 ~ 100) % まで復帰させることができた (図 2A, 表 3)。

トリシンの抗 HSV 活性は、方法 1 では、SI=5.8, 方法 2 では、SI=7.0 とササヘルスとは同等であったが、生存率を 67% までしか復帰できなかった (図 2B, 表 3)。他のメトキシフラボノイド類 (3,3',4',5,6,7,8-ヘプタメトキシフラボン, ノビレチン, タンゲレチン, スダチチン) や低分子ポリフェノール類 (エピ

ガロカテキンガレート, クロロゲン酸, *p*-クマル酸, クルクミン, レスベラトロール) も細胞傷害活性が強く, 生存率をそれぞれ 44.8 ± 3.8 (42 ~ 50) %, 62.0 ± 10.4 (49 ~ 75) % までしか復帰できず, 抗 HIV 活性も低かった (SI<1) (表 3)。

コンビニで入手可能なお茶のペットボトルのうち, ほうじ茶 (無希釈), ウーロン茶 (10-倍希釈), おいしいお茶 (無希釈), ヘルシア緑茶 (10 倍希釈), 午後の紅茶 (10 倍希釈), 沸かしたお茶 (100 倍希釈) は, 完全に HSV の細胞変性効果を抑制したが, 麦茶は無希釈でも無効であった。これに対して, ササヘルスは, 200 倍希釈しても強い抗 HSV 活性を示した (図 3)。

4. ササヘルスと抗ウイルス剤との相乗作用

(a) 抗 HIV 剤との併用効果

抗エイズ剤のアジドチミジン (AZT) (SI=8558), ジデオキシシチジン (ddC) (SI=905), カードラン硫酸 (CRDS) (SI $\geq$ 10204) およびデキストラン硫酸 (DS) (SI $\geq$ 47619) は, ササヘルスよりもはるかに高い抗 HIV 活性を示した。次に, ササヘルスとの併用により, これらの薬剤の抗 HIV 活性がさらに増強されるか否か検討した (図 4)。

32 μ M AZT と 0.00064, 0.0032, 0.016, 0.08% ササヘルスの併用, 160 μ M AZT と 0.00064, 0.0032% ササヘルスの併用は相乗効果を示した (図 4A)。0.016% ササヘルスと 6.4 μ M AZT の併用は, 32 μ M AZT 単独と同等の効果を与えた。

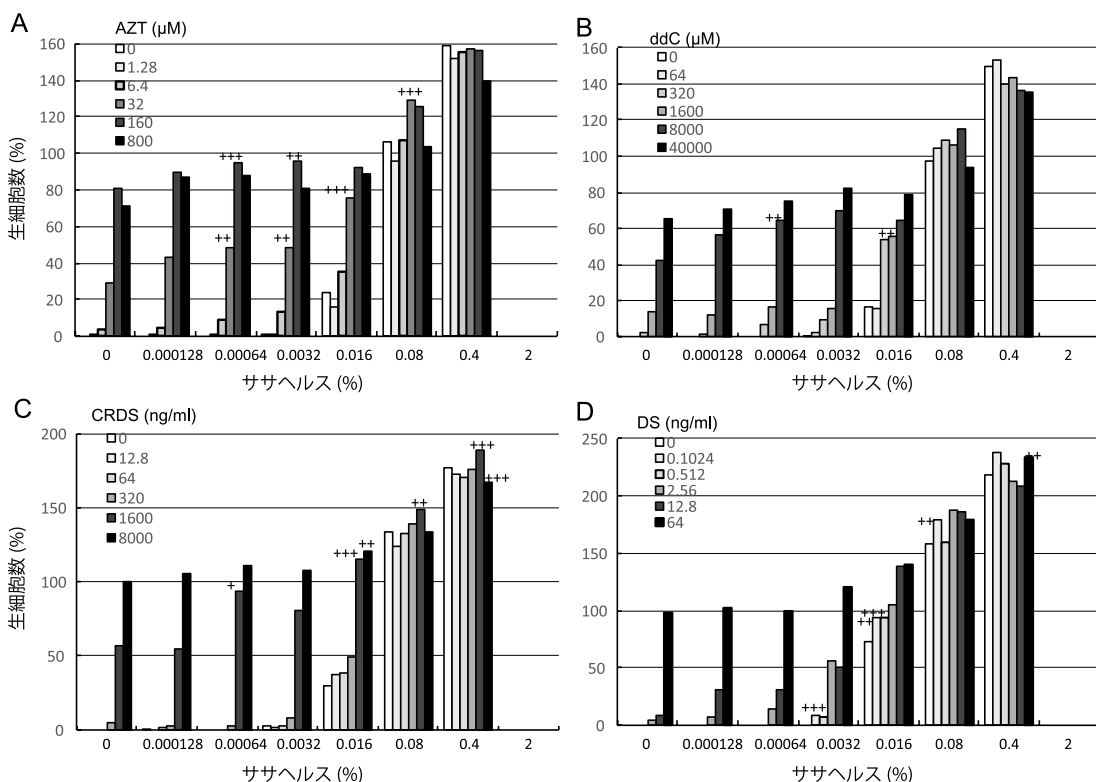


図 4 ササヘルスと抗 HIV 剤との相乗効果²⁴⁾

HIV-1_{IIIB} 感染 MT-4 細胞を, azidothymidine (AZT) (B), 2',3'-dideoxycytidine (ddC) (C), curdlan sulfate (CRDS) (D), dextran sulfate (DS) (E) 存在下で, 種々の濃度のササヘルスを含む RPMI1640+10%FCS 培養液中で 5 日間培養し, 生細胞数を MTT 法により求め, 対照に対する % で表示した。各点は, 3 検体の値の平均値を示す。*95% Synergy, **99% synergy, ***99.9% synergy

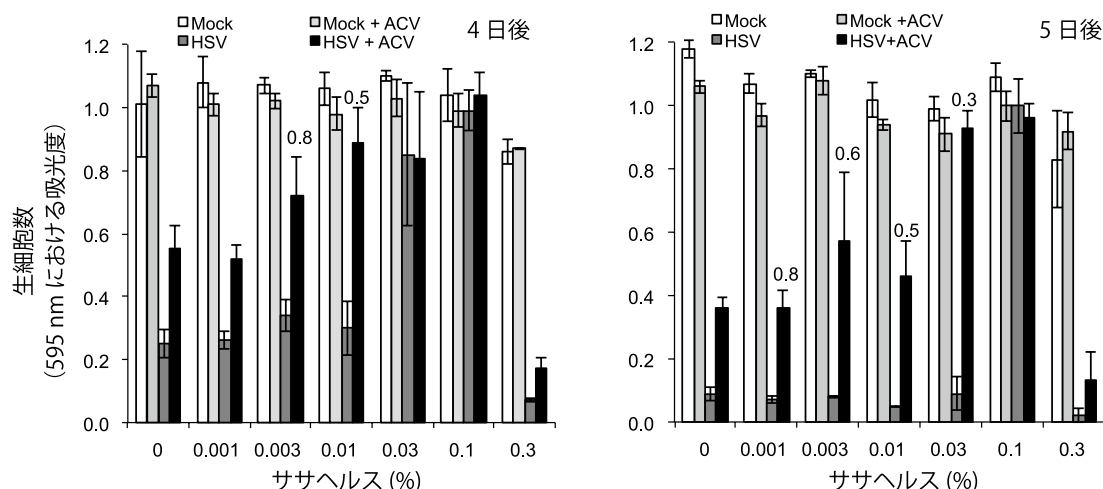


図5 ササヘルスとアシクロビル (ACV) の相乗的抗 HSV 活性²⁴⁾

Vero 細胞を、種々の濃度のササヘルスで全処理した HSV-1 に感染させ、4 あるいは 5 日間、培養後、生細胞数を MTT 法で測定した。各点は、3 検体で行った平均値と SD の値を示す。図中の数字は、combination index (CI) を示す。

この結果は、AZT の投与量を 1/5 に減らせることを示す。32 μ M AZT とササヘルスの併用は、160, 800 μ M AZT 単独と同等の効果を与えた。AZT の投与量を 1/5 ~ 1/25 に減らせることが判明した。

1600 μ M ddC と 0.016% ササヘルスの併用、8000 μ M ddC と 0.00064% ササヘルスの併用は、相乗効果を示した (図 4B)。0.016% ササヘルスと 320 μ M ddC の併用は、8000 μ M ddC 単独と同程度の効果を示した。ddC の投与量を 1/25 に減らせることができた。

1600 ng/mL CRDS と 0.00064, 0.016, 0.08, あるいは 0.4% ササヘルスの併用、8000 ng/mL CRDS と 0.016, 0.4% ササヘルスの併用は、相乗効果を示した (図 4C)。0.00064% ササヘルスと 1600 μ M CRDS の併用は、8000 μ M CRDS 単独と同等の効果を示した。CRDS の投与量を 1/5 に減らせることができた。

2.56 ng/mL DS と 0.016% ササヘルスの併用、12.8 ng/mL DS と 0.032, 0.016% ササヘルス、64 ng/mL DS と、0.08, あるいは 0.4% ササヘルスの併用は相乗効果を示した (図 4D)。2.56 ng/mL DS と 0.032% ササヘルスの併用は、HIV 感染細胞の生存率を、50% まで相加させたが

(99.9% synergy), DS 単独、ササヘルス単独では効果がなかった (図 4D)。

(b) 抗 HSV 剤との併用効果

HSV-1 の感染により、培養 4, 5 日後には、細胞の生存率が 10 ~ 25% まで低下した (図 5)。0.03 ~ 0.01% ササヘルスを添加することにより、HSV-1 感染による細胞変性効果はほぼ消滅した。アシクロビル (300 nM) の添加は部分的に抗 HSV 効果を示した。次に、CompuSyn software program を用いたアイソボログラム解析により、CI (Combination Index) を計算して、相乗効果を判定した。CI<1 は相乗の効果、CI=1 は相加効果、CI>1 は拮抗作用を示す。0.003 あるいは 0.01% ササヘルスとアシクロビルの併用は、相乗的な抗 HSV 活性を示した (CI=0.8, 0.5) (図 5)。培養時間を 5 日まで延長すると、相乗効果が、幅広いササヘルスの濃度範囲 (0.001, 0.003, 0.01, 0.03%; CI=0.8, 0.6, 0.5, 0.3) で観察された (図 5)。

5. 今後の方向性

ササヘルスは、広く天然界に存在する物質の中で、最大級の抗 HIV、抗 HSV 活性を示すこ

とが明らかになった。トリシンなどのポリメトキシフラボノイド類や、フラボノイド類、タンニン類の抗ウイルス活性は、我々の系では抗 HIV 活性を全く示さなかった (表 2)。トリシンはササヘルスと同程度の抗 HSV 活性を示した。この結果は、トリシンの抗 HIV 活性³³⁾、抗サイトメガロウイルス活性³⁴⁾、インフルエンザウイルス活性³⁵⁾に関する既報の結果を支持する。しかし、トリシンや他のポリメトキシフラボノイド類、フラボノイド類、タンニン類の細胞傷害活性は強く、感染による細胞死を完全には抑制することが出来なかった。

フラボノイド類やタンニン類は、精製すると mg オーダーの量しか得ることができず、工業的な生産には向かない。これに対して、ササヘルスの原材料のクマザサ葉は、天然界にほぼ無尽蔵に存在し、工業的生産には有利である。

今回、ササヘルスは、既存の抗ウイルス剤の作用を相乗的に促進することが明らかになっ

た。特に、ササヘルスは、ウイルスの吸着や侵入を阻害する CRDS や DS³⁶⁾ よりも、AZT や ddC などの逆転写酵素阻害剤³⁷⁾ のように作用点の異なる薬剤に対して高い相乗効果を示した。ササヘルスが臨床で使用されている抗 HIV 剤の投与量を 1/5 ~ 1/25 まで減らせことは、高い経済効果を生み出す可能性がある。南アのように HIV 患者が 2 割を超す国においては抗 HIV 剤をより多くの HIV 感染患者に普及するのに貢献するものと思われる。

ササヘルスは、卓越した抗ウイルス活性以外にも、歯肉炎抑制効果や¹³⁾、扁平苔癬改善効果¹⁷⁾、破骨細胞抑制効果¹⁷⁾を示すので、種々の口腔疾患に対する治療効果が期待される。我々が開発したササヘルス入りの歯磨剤は、口臭を有意に低下させる効果があることが明らかになった²²⁾。今後、ササヘルスを用いた製品の開発をさらに進めて行きたい。

参考文献

1. 坂上 宏, 渡辺悟, 横手よし子, 谷口純子, 大泉高明: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の多様な生物作用と代替医療における機能性, *New Food Industry* **50**(5), 17-24, 2008.
2. Sakagami H, Amano S, Kikuchi H, Nakamura Y, Kuroshita R, Watanabe S, Satoh K, Hasegawa H, Nomura A, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Taniguchi S and Oizumi T: Antiviral, Antibacterial and Vitamin C-synergized Radical Scavenging Activity of *Sasa senanensis* Rehder extract. *In Vivo* **22**(4): 471-476, 2008.
3. 坂上 宏, 周 麗, 儲 慶, 王 勤濤, 北嶋まどか, 大泉 浩史, 大泉 高明: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の抗炎症作用, *New Food Industry* **51**(1): 27-34, 2009.
4. Zhou L, Hashimoto K, Satoh K, Yokote Y, Kitajima M, Oizumi T, Oizumi H and Sakagami H: Effect of *Sasa senanensis* Rehder extract on NO and PGE2 Production by activated mouse macrophage-like RAW264.7 cells. *In vivo* **23**: 773-778, 2009.
5. 坂上 宏, 周 麗, 河野みち代, メイ・モウ・テツ, 長谷川秀夫, 田中庄二, 町野守, 天野滋, 黒下礼奈, 渡部茂, 金本大成, 寺久保繁美, 中島秀喜, 関根圭輔, 白瀧義明, 植沢芳広, 毛利公則, 儲 慶, 王 勤濤, 北嶋まどか, 大泉 浩史, 大泉 高明: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の抗炎症作用に基づく口腔環境改善効果の可能性, *New Food Industry* **52**(2) 1-10, 2010.
6. 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.
7. Sakagami H, Zhou Li, Kawano M, Thet MM, Takana S, Machino M, Amano S, Kuroshita R, Watanabe S, Chu Q, Wang QT, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Sekine K, Shirataki Y, Hao ZC, Uesawa Y, Mohri K, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Multiple Biological Complex of Alkaline Extract of the Leaves of *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **24**: 735-744, 2010.
8. 坂上 宏, 植木淳一, 島田亜希, 小野真那巳, 菅藤歌織, 若林英嗣, 南部俊之, 嶋田 淳, 牧 純, 山本正次, 北嶋まどか, 大泉浩史, 大泉高明, 牧野 徹: 抗酸化剤および植物抽出液の紫外線に対する細胞保護作用, *New Food Industry* **53**(1): 11-19, 2011.

9. 坂上 宏, 岩本祥子, 松田友彦, 北嶋まどか, 大泉浩史, 大泉高明: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の口内炎治療効果の可能性: 培養ヒト歯肉線維芽細胞による炎症性サイトカイン産生の抑制 *New Food Industry* **53**(7): 11-18, 2011.
10. 松田友彦, 北嶋まどか, 大泉浩史, 大泉高明, 坂上宏: クマザサ抽出液 (ササヘルス) 及び luteolin 配糖体の紫外線に対する細胞保護効果, *New Food Industry* **53**(7): 19-25, 2011.
11. Matsuta T, Sakagami H, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Anti-UV Activity of Alkaline Extracts of the Leaves of *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **25**(5): 751-755, 2011.
12. Matsuta T, Sakagami H, Satoh K, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Biological activity of luteolin glycosides and tricin from *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **25**(5): 757-762, 2011.
13. Ono M, Kantoh 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.
14. 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.
15. Sakagami H, Matsuta T, Satoh K, Ohtsuki S, Shimada C, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Morita Y, Ohkubo A, Tsuda T, Sunaga K, Maki J, Sugiura T, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Biological Activity of SE-10, a granulated powder of *Sasa senanensis* Rehder leaf extract. *In Vivo* **26**: 411-418, 2012.
16. 坂上 宏, 松田友彦, 田中庄二, 町野 守, 安井利一, 伊藤一芳, 北嶋まどか, 杉浦智子, 大泉浩史, 大泉高明: クマ笹葉エキスを由来製品の開発, 機能性評価及び口腔疾患への適応 *New Food Industry* **54**(6): 11-26, 2012.
17. 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.
18. Matsuta T, Sakagami H, Sugiura T, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Structural characterization of anti-UV components from *Sasa senanensis* Rehder extract. *In Vivo* **27**: 77-84, 2013.
19. Sakagami H, Matsuta T, Yasui T, Oguchi K, Kitajima M, Sugiura T, Oizumi T and Oizumi T: Chapter 8: Functional evaluation of Sasa Makino et Shibata leaf extract as group III OTC drug In: Alternative Medicine (eds. Sakagami H), pp171-200, InTech ISBN 980-953-307-811-8
20. Sakagami H, Amano S, Yasui T, Satoh K, Shioda S, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Watanabe K, Sugiura T, Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Biological interaction between *Sasa senanensis* Rehder leaf extract and toothpaste ingredients. *In Vivo* **27**: 275-284, 2013.
21. 坂上 宏, 大越絵実可, 松田友彦, 田中庄二, 松本勝, 安井利一, 渡邊康一, 北嶋まどか, 堀内美咲, 賈俊業, 大泉浩史, 大泉高明: 第3編企業の開発動向, 第5章, 抗ウイルス素材, 1. クマザサ葉抽出液「ササヘルス」配合歯磨剤 pp217-243 (ーラルヘルスケア機能性食品の開発と応用ーアンチエイジングを目指した口腔ケアを中心にー監修: 坂上 宏 教授/明海大学) pp217-243, シーエムシー出版, 2013年12月3日
22. Sakagami H, Sheng H, Ono K, Komine Y, Miyadai T, Terada Y, Nakada D, Tanaka S, Matsumoto M, Yasui T, Watanabe K, Junye J, Natori T, Suguro-Kitajima M, Oizumi H and Oizumi T: Anti-halitosis effect of toothpaste supplemented with alkaline extract of the leaves of *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo*. **30**(2):107-111, 2016.
23. Sakagami H, Sheng H, Okudaira N, Yasui T, Wakabayashi H, Jia J, Natori T, Suguro-Kitajima M, Oizumi H, and Oizumi T: Prominent Anti-UV Activity and Possible Cosmetic Potential of Lignin-carbohydrate Complex. Review. *In Vivo* **30**(4): 331-339, 2016.
24. Sakagami H, Fukuchi K, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Natori T, Suguro-Kitajima M, Oizumi H, Yasui T, and Oizumi T: Synergism of Alkaline extract of the leaves of *Sasa senanensis* Rehder and antiviral agents. *In Vivo*. **30**(4): 421-426, 2016.
25. Fukuchi K, Okudaira N, Adachi K, Ohno H, Yamamoto M, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H and Sakagami H: Antiviral and antitumor activity of licorice root extracts. Submitted to *In Vivo*, in press, 2016.
26. Fukai T, Sakagami H, Toguchi M, Takayama F, Iwakura I, Atsumi T, Ueha T, Nakashima H and Nomura T: Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines. *Anticancer Res* **20**:

2525-2536, 2000.

27. Nakashima H, Murakami T, Yamamoto N, Sakagami H, Tanuma S, Hatano T, Yoshida T and Okuda T: Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Res* **18**: 91-103, 1992.
28. Nakashima H, Murakami T, Yamamoto N, Naoe T, Kawazoe Y, Konno K and Sakagami H: Lignified materials as medicinal resources. V. Anti-HIV (human immunodeficiency virus) activity of some synthetic lignins. *Chem Pharm Bull* **40**: 2102-2105, 1992.
29. Koizumi N, Sakagami H, Utsumi A, Fujinaga S, Takeda M, Asano K, Sugawara I, Ichikawa S, Kondo H, Mori S, Miyatake K, Nakano Y, Nakashima H, Murakami T, Miyano N and Yamamoto N: Anti-HIV (human immunodeficiency virus) activity of sulfated paramylon. *Antiviral Res* **21**: 1-14, 1993.
30. 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.
31. 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.
32. Fukuchi K, Sakagami H, Okuda T, Hatano T, Tanuma S, Kitajima K, Inoue Y, Inoue S, Ichikawa S, Nonoyama M and Konno K: Inhibition of herpes simplex virus infection by tannins and related compounds. *Antiviral Res* **11**: 285-298, 1989.
33. Wang HK, Xia Y, Yang ZY, Natschke SL and Lee KH: Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumor and anti-HIV agents. *Review Adv Exp Med Biol* **439**:191-225, 1998.
34. Murayama T, Li Y, Takahashi T, Yamada R, Matsubara K, Tuchida Y, Li Z and Sadanari H. Anti-cytomegalovirus effects of triclin are dependent on CXCL11. *Microbes Infect* **14**(12):1086-1092, 2012.
35. Yazawa K, Kurokawa M, Obuchi M, Li Y, Yamada R, Sadanari H, Matsubara K, Watanabe K, Koketsu M, Tuchida Y and Murayama T. Anti-influenza virus activity of triclin, 4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone. *Antivir Chem Chemother* **22**(1):1-11, 2011.
36. Esteves AI, Nicolai M, Humanes M, and Goncalves J: Sulfated polysaccharides in marine sponges: extraction methods and anti-HIV activity. *Mar Drugs* **9**(1):139-153, 2011.
37. De Clercq E: New developments in anti-HIV chemotherapy. *Curr Med Chem* **8**(13):1543-1572, 2001.

連絡先：

〒142-8666

東京都品川区旗の台 1-5-8

昭和大学病院 臨床病理診断科

福地邦彦

Tel: 03-3784-8577; e-mail: kfukuchi@med.showa-u.ac.jp

〒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

〒213-0012

神奈川県川崎市高津区坂戸 3-2-1 かながわサイエンスパーク内 (KSP)D 棟 8F

株式会社大和生物研究所

大泉高明

Tel: (044)819-2291; Fax: (044)812-7482; e-mail: takaakio@daiwaseibutsu.co.jp

ーブラジル産グリーンプロポリスの生理活性ー

生田 直子 (IKUTA Naoko)¹ 松郷 誠一 (NATSUGO Seiichi)²

¹ 神戸大学大学院医学研究科, ² 金沢大学理工研究域 自然システム学系

Key Words: プロポリス グリーンプロポリス アルテピリン C フェニルプロパノイド プレニル化

1. プロポリスの抗がん作用

プロポリスの抗がん作用についてはこれまで多くの研究がなされてきたが, Chan らは (Chan ら, 2013 年) プロポリスの抗がん作用について次の 6 つのメカニズムに分類してまとめている²⁶⁾。

- (1) 免疫調節作用を介したがん細胞あるいは前がん細胞の増殖抑制。
- (2) がん幹細胞の細胞数を減少させる。
- (3) 発がんのシグナル伝達を特異的に阻害する。
- (4) 血管新生抑制。
- (5) 腫瘍の微小環境を調節する。
- (6) がん治療の補助的, 補足的な役割を果たす。

各メカニズムについての報告例は Chan らの総説に, アルテピリン C と CAPE に主眼を置き, まとめられているのでそちらを参考にされたい。ブラジル産グリーンプロポリスの抗がん, 抗腫瘍に関する研究は比較的多く, 動物²⁷⁻³¹⁾ (Kimoto ら, 2000 年: Kimoto ら, 2001 年: Shimizu ら, 2006 年: Messerli ら 2009 年: Lima ら, 2014 年) あるいは細胞³²⁻⁴¹⁾ でその作用について報告されている。in vitro の系では, 研究対象となる化合物の生物学的利用能が実験結果に反映されにくい。また, 生体内では肝臓を通過する際に酵素によって様々な物質に代謝されるた

め, 摂取した化合物がそのままの構造を保ったまま生理活性を発揮しているとは限らない。本稿では主に in vivo の実験に着目して紹介したい。Kimoto らは, 鉄ニトリロ三酢酸をマウスに投与して腎臓がんを誘発させた実験を行った結果 (Kimoto ら, 2000 年), ブラジル産プロポリスとアルテピリン C が腎臓の酸化ダメージを軽減し, 腎臓がんの進行を抑制した²⁷⁾。同じく鉄ニトリロ三酢酸をマウスに投与して肺がんを誘発させた実験では (Kimoto ら, 2001 年), ブラジル産プロポリスもしくはアルテピリン C を投与することによって脂質過酸化が抑制され, 肺がんの進行が抑制された²⁸⁾。

抗がん作用や抗腫瘍作用の機序には生体の酸化ストレス応答が関与しているケースが多い。Shimizu らの研究によると (Shimizu ら, 2006 年)²⁹⁾, 5 週齢の雄 ddY マウスにアゾキシメタンを投与して大腸がんを誘発させ, 同時にブラジル産プロポリスの 90% メタノール抽出物 (メタノール抽出液を酢酸エチル / 水に分配させ, 酢酸エチル相を乾固させたもの) 80mg/kg 体重もしくは 160mg/kg 体重, あるいは, アルテピリン C 10mg/kg 体重 をマウスに長期摂取させた結果, 大腸の異常陰窩巣 (早期に発見されるがん化の可能性のある部分) の形成が抑制され

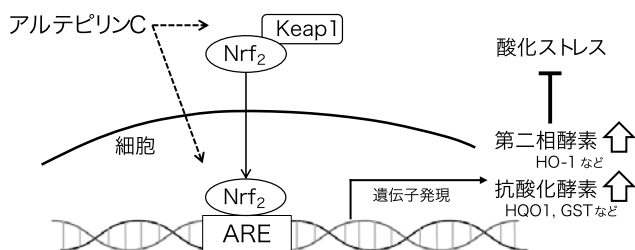


図9 Nrf₂-ARE 経路あるいは Keap1-Nrf₂ 経路を介した酸化ストレス軽減機構

た。この実験で用いたプロポリスの90%メタノール抽出物160mg/kg体重はアルテピリンC10mg/kg体重とアルテピリンCの投与量として同等であり、得られた結果もほぼ同程度であった。この実験で、プロポリスあるいはアルテピリンC投与群は、肝臓でのグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（グルタチオン転移酵素）とキノン・リダクターゼ（酸化還元酵素）の活性を統計学的に有意に上昇させた。また同じく肝臓において、抗酸化応答配列（antioxidant responsive element; ARE）の結合体レベルがコントロールに比べて高かったことから、ブラジル産プロポリスあるいはそれに含まれる成分であるアルテピリンCはAREの結合活性を上流で制御し、グルタチオン転移酵素や酸化還元酵素などの第二相酵素の発現を誘導していることが示された。第二相酵素は生体の酸化ストレスを軽減することが知られている。ShimizuらはアルテピリンCの化学構造からこの作用機序について考察している。アルテピリンCは2本のプレニル基がフェノール性水酸基を挟んだ構造をしている。彼らは「一般的に水酸基周辺に結合する酵素の接近を立体的に阻害するため、経口摂取したアルテピリンCは生体内の酵素と反応せず、分子構造を保ったまま肝臓に送られ、そこでAREの結合を活性化することによって第二相酵素を活性化し、大腸がんを抑制した」と考えた²⁹⁾。Shimizuらの研究ではアルテピリンCが上流のどの部分に作用するかは不明だが、Nrf₂-ARE経路あるいはKeap1-Nrf₂経路（酸化ストレスに対する生体防御機構

として重要な役割を果たしている）（図9）を活性化している可能性が考えられる。

プロポリスは遺伝疾病の一つである神経線維腫症（Neurofibromatosis; NF）に有効であるとの報告例もある。NFは腫瘍が体中の神経に沿って成長することが原因となり、骨や皮膚などの神経以外の組織に影響を及ぼすことで様々な病態をしめす遺伝疾病の総称である。原因

遺伝子の染色体上の場所の違いから主にNF1型とNF2型の2つに分けられる。NF1はヒトの遺伝病としては頻度が高く、およそ3,000人から4,000人に1人の確率で起こると言われている。NF2はNF1より頻度が低く、およそ25,000に1人の出生頻度とされている。Messerliらは（Messerliら、2009年）³⁰⁾、ヒト由来の神経鞘腫細胞を移植したNF2モデルマウスにアルテピリンC（50mg/kg体重）もしくはグリーンプロポリスのエタノール抽出物（500mg/kg体重）を腹腔内投与した結果、腫瘍の増殖が抑制されたと報告している。また、Messerliらは同時に細胞を用いて作用機序に関する実験を行っており、グリーンプロポリス処理によって、1) PAK1（p21 activated kinase 1）のリン酸化が抑制されたこと、2) アルテピリンCが濃度依存的にRaf-1のリン酸化を抑制したことから、グリーンプロポリスはPAK1を介してPAK1/Raf-1/ERK経路を制御し、腫瘍の増殖を抑制した（図10）と結論付けている³⁰⁾。興味深いことに、CAPEに関してもPAK1阻害作用があると報告されている。Demestreらは（Demestreら、2009年）、CAPEを豊富に含んだニュージーランド産プロポリスの抽出液をNF1およびNF2モデルマウスに投与したところ、NF1の腫瘍の増殖を抑制し、またNF2の腫瘍をほぼ完全に退縮させたと報告している⁴⁾。PAK1は、RAC/CDC42によって活性化されるキナーゼで、細胞のがん化に関わると言われており、PAK1阻害効果があると報告されている化合物はCAPEやアルテピリンC以外にも、ウコンに含まれるクルクミン

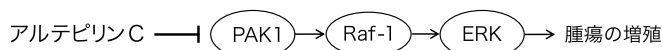


図 10 アルテルピリン C の PAK1 を介した腫瘍増殖抑制機構

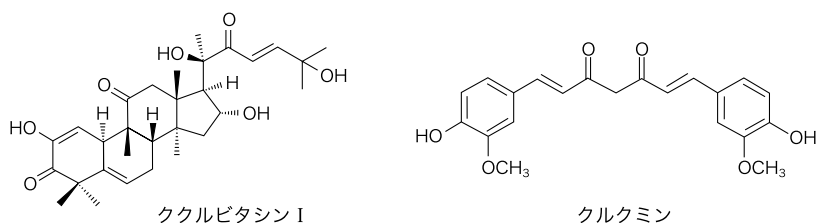


図 11 PAK1 阻害効果を有するその他の化合物

やゴーヤなどに多く含まれるククルビタシン I (図 11) などが挙げられる (Nguyen ら, 2016 年)⁴²⁾。ククルビタシンはゴーヤの強烈な苦味の元であり、ステロイドの一種、トリテルペンに属する。

CAPE の抗がん作用のメカニズムについては別の報告例もある。近年、がん治療をターゲットとして、ギャップジャンクションを介した細胞間の情報伝達 (gap junctional intercellular communication: GJIC) に関する研究が盛んになっているが、その背景として、最近になって白血病から幹細胞様の小集団が分離されたことが挙げられる。肺がんや乳がんなど多くの固形腫瘍でも同様の報告がされている^{43, 44)}。がん幹細胞は正常幹細胞と同様の細胞表面マーカーを有しているが、細胞増殖が制御できない原因の一つとして、GJIC の不足が考えられている。Na らは (Na ら, 2000 年)、GJIC が不足した腫瘍化細胞において 5 μ g/mL、3 日間の CAPE 処理によって GJIC が修復し、ギャップジャンクションを構成するコネクシン (connexin) のリン酸化、また、コネクシンの正常な局在化を促したと報告している⁴⁵⁾。アルテルピリン C に関する同様の報告は今のところない。

2. プロポリスの免疫調節作用

前述の抗がん作用のほかに、免疫調節作用もプロポリスの注目される生理活性のひとつである。Chan ら (Chan ら, 2013 年) の調査によると、プロポリスの免疫調節作用は主に、直接的

な免疫抑制によるものと、免疫賦活性のサイトカインの放出が減少する結果によるものとに二分されるようだ。しかしながら、ヒトの免疫機能は非常に複雑であり、それを科学的、定量的に評価することは極めて難しく、現在のところプロポリスの免疫調節作用に関する確たるメカニズムは分かっていない。Chan らは MTT アッセイよりもより高感度で測定範囲が広い XTT 比色アッセイ法を用いて、ブラジル、ニュージーランド、中国、タスマニアの 4 つの産地のプロポリスの免疫調節作用に関する実験を行った。その結果、ブラジル産プロポリス以外の 3 つの産地のプロポリスでは、ヒト末梢血単核細胞の増殖に効果はなかったが、ブラジル産プロポリスはヒト末梢血単核細胞に対して刺激性を示した。その作用は細胞増殖が促進するというよりもむしろ、細胞のミトコンドリアの活性が増大することに起因するものと結論付けた点が非常に興味深い²⁶⁾。これらの 4 つの産地のプロポリスのうちブラジル産プロポリスだけが熱帯の植物を起源としており、温帯と熱帯の植物に含まれる成分の違いがブラジル産プロポリスの特徴的なものになっていると考えてよいだろう。ブラジル産プロポリスに関するヒト臨床研究の報告例はほとんどないので、免疫調節作用については細胞や動物で行われた研究を紹介したい。

Orsi らは (Orsi ら, 2005 年)、食中毒の原因菌の一つであるサルモネラ菌を用いたブラジル産プロポリスの免疫調節作用に関する実験を

行っている⁴⁶⁾。生体内ではサルモネラ菌に感染するとすぐにマクロファージが働き始め、侵入してきた菌を殺菌するが、それと同時にマクロファージ自身も一酸化窒素 (NO) や過酸化水素 (H_2O_2) などの活性窒素および活性酸素種を産生する。Orsi らは、サルモネラ菌とマクロファージの濃度比を変えて実験を行い、菌のコロニー形成と NO 産生量、 H_2O_2 放出量を測定した結果、ブラジル産プロポリスの前処理によって高い殺菌力が示されたと報告している⁴⁶⁾。プロポリスの抗菌活性については古くから研究されており、ブラジル産グリーンプロポリスの抗菌活性に関する報告例は多い⁴⁷⁾。

Pagliarone らは (Pagliarone ら, 2009 年), マウスにブラジル産プロポリスの 70% メタノール抽出物を投与し、そのすぐ後に 1 日 1 回, 3 日間 (それぞれ 30 分, 1 時間, 2 時間) 拘束し、血中コルチコステロンと、脾臓中の炎症誘発性サイトカイン (IL-1 β , IL-6) の産生および Toll 様受容体 (TLR2, TLR-4) の発現について解析した。その結果、ブラジル産プロポリス投与はストレスによって抑制された TLR-4 の発現を回復させたが、それ以外についてはプラスの効果を示さなかった⁴⁸⁾。また、Pagliarone らのグループは (Pagliarone ら, 2009 年) 同じストレス負荷マウスの実験系にて、血中コルチコステロンと、脾臓中のヘルパー T1 細胞 (Th1)

のサイトカイン (IL-2, IFN- γ) と ヘルパー T2 細胞 (Th2) のサイトカイン (IL-4, IL-10) の産生を分析した。その結果、ブラジル産プロポリス投与は IL-4 産生において免疫応答を示したが、それ以外ではプラスの効果はなかった (図 12)⁴⁹⁾。IFN- γ は Th2 を介して IgE 抗体の産生を抑制するが、Pagliarone らの実験ではベースラインの IFN- γ レベルに群間のバラツキがあり (結果に信頼性があるかどうか判断しづらい), プロポリス投与が IFN- γ の産生に有効であるという結果は得られていない。Sa-Nunes らは (Sa-Nunes ら, 2003 年), ブラジル産プロポリス抽出物はリンパ球を活性化し、IFN- γ の産生を促進して脾臓細胞の増殖を抑制したと報告している⁵⁰⁾。

ブラジル産プロポリスの生理活性成分であるアルテピリン C に着目した免疫調節作用に関する研究もいくつか報告されている。Kimoto らのグループは (Kimoto ら, 1998 年: Kimoto ら, 2001 年) ブラジル産グリーンプロポリスから抽出されたアルテピリン C がマウスの免疫機能を活性化し、アポトーシスを誘導することによって腫瘍の増殖を抑制すること⁵¹⁾、また、白血病細胞のアポトーシスを誘導することによって *in vitro*, *in vivo* の実験結果より報告している⁵²⁾。Machado らは (Machado ら, 2012 年), 肉芽腫性の炎症モデルマウスおよび LPS 刺激により急性炎症を引き起こした肺傷害モデルマウスを用いてブラジル産グリーンプロポリスの様々な抽出物の作用について調べている。Machado らの研究によると、アルテピリン C を比較的多く含む抽出物もしくは 10 分の 1 程度含む抽出物を 5mg/kg 体重投与した群では、コントロール群に比べて、気管支肺胞洗浄液中の好中球数およびリンパ球数を減少させたと報告している。LPS 刺激による肺障害モデルマウスにおいてはマクロファージ数も減少した。次に、LPS 刺激による肺障害モデルマウスにおいて炎症性のサイトカイン (IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β) を分析した結果、どちらの抽出物の群においてもコントロール群と比較して IL-6 お

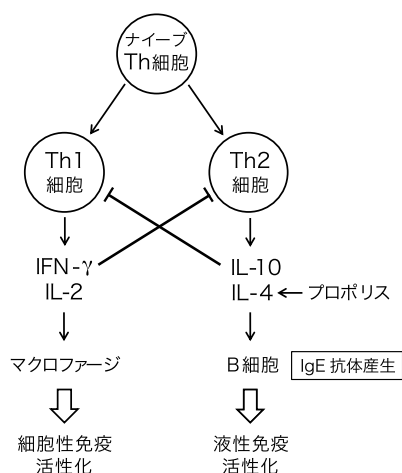


図 12 プロポリスの免疫応答に与える影響

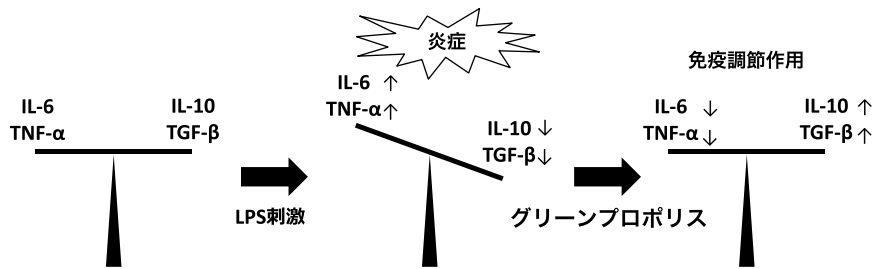


図 13 グリーンプロポリスの免疫調節作用

よび TNF- α が減少し、IL-10 および TGF- β が増大した。Machado らはこれらの結果から、ブラジル産グリーンプロポリスは免疫調節作用を介して抗炎症作用を示す（図 13）と結論付けている⁵³⁾。また、ブラジル産グリーンプロポリスの免疫調節作用はアルテピリン C 単独によるものではなく、桂皮酸やコーヒー酸、クマル酸などのその他の様々な物質も関わっていることが示された。一方、Orsatti らは（Orsatti ら、2010 年）、ブラジル産グリーンプロポリスのエタノール抽出物 200mg/kg 体重をマウスに投与した結果、自然免疫を増強し、IL-1 と IL-6 の発現を促したと報告している⁵⁴⁾。この結果は Machado らの実験結果とは異なるが、これら二つの実験では投与量が全く異なる点を考慮しなければならない。多くの温帯植物を起源としているプロポリスの共通した主な生理活性物質は CAPE であるが、CAPE の免疫調節作用や抗腫瘍作用に関する研究はアルテピリン C に比べるとはるかに多い。その理由としては、1980 年代に Hashimoto らが CAPE の合成に成功しており（Hashimoto ら、1988 年）⁵⁵⁾、純度の高い CAPE を用いた細胞試験あるいは動物試験において、CAPE の作用とそのメカニズムに関する研究が進んでいることが一因となっているだろう。

ブラジル産プロポリスの免疫調節作用に関する研究はまだそれほど多くなく、これまで行われた研究からはその作用機序について明確に説明できるエビデンスは得られていない。プロポリスの免疫調整作用については今後更なる研究が必要である。

3. グリーンプロポリスのアルテピリン C 吸収性

前述の通り、ブラジル産グリーンプロポリスにはアルテピリン C やその他様々な成分が含まれており、またそれら成分の含有量は季節や産地によって異なるため、プロポリスの吸収性を科学的に評価することは極めて困難である。しかしながら、プロポリスが広く一般に利用されつつある現状を考えると、プロポリスあるいはプロポリスに含まれる成分の吸収性を科学的に評価することは重要である。吸収性の評価方法はいくつか知られているが、Caco-2 細胞を用いた方法は食品の研究開発の分野では一般的に広く利用されている。Konishi らは（Konishi ら、2005 年）、電量分析システムを組み合わせた高感度の HPLC-ECD を用いてアルテピリン C の Caco-2 膜透過性を評価し、アルテピリン C の吸収機構について速度論的に解析している。解析の結果、アルテピリン C は脂溶性が高く、主には受動拡散輸送によって Caco-2 細胞を通過するが、一部は腸管側のモノカルボン酸トランスポーター（MCT）様の輸送システムによって細胞内への取り込まれる（但し、細胞内から血漿側へは輸送されない。）と報告している⁵⁶⁾。Konishi らは同じ Caco-2 細胞を用いた評価系にて、その他のフェノール酸（フェルラ酸、*p*-クマル酸、コーヒー酸、没食子酸、クロロゲン酸、ロズマリン酸）についても膜透過性を評価し、吸収機構について各物質の化学構造をもとに考察している（Konishi ら、2003 年:Konishi ら、2003 年:Konishi ら、2004 年:Konishi ら、2005 年）。Konishi らの研究⁵⁷⁻⁶⁰⁾によると、

表2 アルテピリン C とその他のフェノール酸の吸収機構

受動輸送 溶解拡散 (lipid route) (細胞を通過。脂溶性が高い化合物)	受動輸送 制限拡散 (pore route) (細胞間隙を通過。主に低分子)	能動輸送 MCT 様輸送 (モノカルボン酸トランスポーター)
アルテピリン C	コーヒー酸 没食子酸 クロロゲン酸 ロズマリン酸	アルテピリン C (一部) * 但し、細胞内から血漿側へは MCT 様輸送されない。 フェルラ酸 p- クマル酸 コーヒー酸 (一部)

フェルラ酸や p- クマル酸は MCT 様輸送システムで能動輸送されるが、コーヒー酸は MCT との親和性が低く一部は MCT 様輸送システムで能動輸送されるが主には細胞間隙から膜透過し、没食子酸、クロロゲン酸、ロズマリン酸についてはほぼ全て細胞間隙から膜透過すると報告している (表 2)。

さらに、Konishi らは (Konishi ら, 2005 年) アルテピリン C と p- クマル酸について、ラットを用いた経口単回投与による吸収性評価を行い報告している。100 μ mol/kg 体重のアルテピリン C もしくは p- クマル酸をラットに経口投与後、5 分、10 分、20 分、30 分、60 分、90 分に門脈と腹部大動脈の採血を行い、血中のアルテピリン C もしくは p- クマル酸を、電量分析システムを組み合わせた高感度の HPLC-ECD を用いて分析している。この時、酵素を用いてグルクロン酸および硫酸抱合を外す処理を行ったサンプルと無処理のサンプルの両方を分析し引き算することで、サンプル中の抱合体量を算出している。実験の結果、門脈の血中アルテピリン C 濃度は腹部大動脈の血中濃度に比べて非常に高く (遊離体の Cmax で約 36 倍、門脈の遊離体 Cmax :19.67 μ mol/L、腹部大動脈の遊離体 Cmax :0.55 μ mol/L)、また、門脈および腹部大動脈のどちらにおいてもアルテピリン C グルクロン酸および硫酸抱合体の血中濃度は遊離のアルテピリン C 濃度に比べて低かった (門脈の Cmax で 5.4 倍、門脈の遊離体 Cmax :19.67 μ mol/L、門脈の抱合体 Cmax :3.64 μ mol/L)。p- クマル酸を経口投与した場合も門脈の血中クマル酸濃度は腹部大動脈の血中濃度に比べて高い傾向を示した (遊離体の Cmax で約 1.6 倍、

門脈の遊離体 Cmax :74.75 μ mol/L、腹部大動脈の遊離体 Cmax :47.36 μ mol/L) が、アルテピリン C の場合と比較するとその差は非常に小さかった。また、門脈および腹部大動脈のどちらにおいても p- クマル酸グルクロン酸および硫酸抱合体の血中濃度は遊離の p- クマル酸濃度に比べて低い傾向を示した (門脈の Cmax で 2.5 倍、門脈の遊離体 Cmax :74.75 μ mol/L、門脈の抱合体 Cmax :29.36 μ mol/L) が、アルテピリン C の場合と比較するとその差は小さかった。またアルテピリン C の吸収性を p- クマル酸のそれと比較すると、門脈の AUC (遊離体) でおよそ 17 倍 p- クマル酸のほうがアルテピリン C よりも吸収性が高い結果であった⁶¹⁾。Konishi らはラットを用いた吸収性試験で、その他のフェノール酸 (コーヒー酸、没食子酸、ロズマリン酸) についても同様に評価している (Konishi ら, 2004 年 :Konishi ら, 2005 年)。Konishi らの研究で Caco-2 細胞での評価結果とラットを用いた吸収性試験の結果は概ね一致しており、アルテピリン C がその他のフェノール酸に比べて吸収性が低いことが示された^{62,63)}。

アルテピリン C はブラジル産グリーンプロポリスに含まれる主要な生理活性物質であるにも関わらず、その吸収性は極めて低い。今後、アルテピリン C やプロポリスに含まれるその他の生理活性物質の吸収性を高めるような技術開発が行われることを強く期待する。

4. 食品産業への応用の可能性

ブラジル産グリーンプロポリスにはハーブのような香りと独特の苦味がある。Hata らは (Hata ら, 2012 年) アルテピリン C がブラジル産グ

リーンプロポリスの苦味成分であり、アルテピリン C がヒトの感覚神経に発現する TRPA1 チャンネルを活性化することによって苦味を引き起こしていると結論づけている⁶⁴⁾。わさびに含まれる AITC もアルテピリン C と同じく TRPA1 チャンネルを刺激することが知られている。

現在、一般に食品として利用されているブラジル産プロポリスは主にエタノール抽出液であり、液体をそのままスポイトで摂取するタイプの製品やソフトカプセルに封入された製品が多くみられる。その理由は、食品に使用できる抽出液としてエタノールは利用可能であることに因るが、エタノールよりも極性の低い有効成分に関しては十分に抽出できているとは言えない。また、有機溶媒を用いた抽出法では残留する溶媒が食品の風味や香りに影響を及ぼすケースもあるため、食品産業においても有機溶媒を使わない分離プロセスが求められている。

超臨界抽出技術はそのようなニーズに応えられる技術の一つとして、近年、食品や医薬品の分野でその利用が拡大してきている。プロポリスに関して超臨界抽出法を用いた報告例が増えてきており (Lee ら, 2007 年 :Paula ら, 2016 年 :Paviani ら, 2010 年 :Machado ら, 2015 年)⁶⁵⁻⁶⁸⁾ 実用化が期待される。(超臨界抽出法とは、超臨界 CO₂ などの超臨界流体を用いて化合物を抽出する方法。超臨界流体は物質の臨界温度 (T_c) および臨界圧力 (P_c) を同時に越えた時に生じる流体で、気体と液体の間のような性質を持ち、温度や圧力を調整することで流体の溶解性を変化させることができるため、目的の物質を選択的に抽出することが可能である。) 特に二酸化炭素は、臨界点が室温付近の 31.2℃で、無味・無臭で一般的な濃度では毒性は低いため、食品・薬品関連分野への応用が可能だとして注目された。もう一つ超臨界抽出が注目された点は、分離の選択性である。超臨界流体はあくまでガスであるため、液体ほどの溶解力はないが、溶解力を制御できるため、目的の化合物を選択的に抽出することが可能

である。また、スプレードライ法 (Souza ら, 2007 年)⁶⁹⁾ に関する報告例もあり、粉末化に関しても技術開発が進んでいる。例えば、環状オリゴ糖であるシクロデキストリンを用いたニュージーランド産プロポリスあるいはそれに含まれる CAPE の粉末に関する報告例^{70, 71)} がある。Uekaji らの報告 (Uekaji ら, 2013 年)⁷¹⁾ では、天然型シクロデキストリンの中でも特に γ -シクロデキストリンに着目し、CAPE を含めコエンザイム Q₁₀ やクルクミンなどの難水溶性物質の溶解度改善やバイオアベイラビリティーの向上について報告している。Uekaji らの報告の中ではアルテピリン C に関する記述はないが、アルテピリン C も CAPE と同様に水溶性が低いことから、シクロデキストリンを用いて溶解度やバイオアベイラビリティーが変化する可能性は大いに考えられる。また、ニュージーランド産プロポリスを、 γ -シクロデキストリンを用いて粉末化し、餌に混ぜてマウスに摂取させた実験 (Cho ら, 2016 年)⁷²⁾ では、本来の目的であった抗がん活性については明確な効果が観察されなかったものの、プロポリス粉末を摂取した群では摂取しなかった群に比べて腺腫の数が減少したと報告されている。

ニュージーランド産プロポリスに関してはシクロデキストリンを利用した粉末化技術の開発が進んでおり、その粉末を使用した研究例も増えつつあるようだ。一方、ブラジル産グリーンプロポリス、あるいはそれに含まれるアルテピリン C に関しては、前述の通り高純度の研究用アルテピリン C 試薬が高価で入手しにくいこともあり、現状では研究例が少ない。しかしながら、第一部で紹介したアルテピリン C の抗酸化活性やラジカル消去活性、第二部で紹介したブラジル産グリーンプロポリスの抗がん作用や免疫調節作用を考えると、機能性食品としてのブラジル産グリーンプロポリスはバイオ新素材としての可能性を示している。抽出や乾燥、粉末化といった食品に応用するための技術開発が望まれる。

おわりに

本稿第一部では、プロポリス研究の歴史を振り返り、ブラジル産グリーンプロポリスの化学的特徴や含まれる化合物の種類、ラジカル消去活性について、主な活性成分であるアルテピリンCを中心に概説した。特に、アルテピリンCに特徴的な構造である、1つのフェノール性水酸基を2本のプレニル基が挟む構造に着目し、その他の類似体と比較した。本稿第二部では、ブラジル産グリーンプロポリスおよびそれに含まれるアルテピリンCがもつ生理活性やその吸収性についてこれまでの研究の成果をまとめた。アルテピリンCは非常に強い生理活性を有しているが、脂溶性であるため生体には吸収されにくいことが知られている。アルテピリンCは桂皮酸誘導体の一つで、前述の通り一つの水酸基を挟んでプレニル基を二つ有しているという特徴的な分子であり、その分子が吸収されると構造を変えることなく生体内で機能

を発揮するであろう点に筆者らは興味を抱いている。また、ブラジル産グリーンプロポリスは様々な生理活性を示すが、その生理活性はアルテピリンC単独によるものではなく、テルペン類やフェニルプロパノイド類などその他の様々な物質が関連した統合的なものであることも興味深い。食品においては抗がん作用を訴求することはできないが、特に近年では、酸化ストレスや炎症性サイトカインとがんや免疫機能に関連した研究が進み、ブラジル産グリーンプロポリスは酸化ストレスや炎症に関わる様々な疾病の予防あるいは改善に期待されている。ブラジル産グリーンプロポリスへの関心が高まり、食品への応用技術が進歩することには大きな意義があると筆者らは考えている。尚、記述には万全を期したつもりであるが、筆者らの力不足等の箇所があれば遠慮なくご指摘頂ければ幸いである。

参考文献

1. Bankova, V. S., DE Castro, S. L., Marcucci, M. C.: Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, **31**, 3-15, 2000.
2. Banskota, A. H., Tezuka, Y., Kadota, S.: Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.* **15**, 561-571, 2001. DOI: 10.1002/ptr.1029.
3. Nakanishi, I., Uto, Y., Ohkubo, K., *et al.*: Efficient radical scavenging ability of artepillin C, a major component of Brazilian propolis, and the mechanism. *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 1452-1454, 2003.
4. Demestre, M., Messerli, SM., Celli, N., *et al.*: CAPE (caffeic acid phenethyl ester)-based propolis extract (Bio 30) suppresses the growth of human neurofibromatosis (NF) tumor xenografts in mice. *Phytotherapy Research*, **23**(2), 226-230, 2009.
5. Wang, K., Hu, L., Jin, X-L., *et al.*: Polyphenol-rich propolis extracts from China and Brazil exert anti-inflammatory effects by modulating ubiquitination of TRAF6 during the activation of NF- κ B. *J Funct Foods*, **19**, 464-478, 2015.
6. Righi, A. A., Negri, G., Salatino, A.: Comparative chemistry of propolis from eight Brazilian localities. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 267878, 2013.
7. Dausch, A., Moraes, C. S., Fort, P., *et al.*: Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. *Evid Based Complement Alternat Med.* **5** (4), 435-441, 2008.
8. Lotti, C., Campo Fernandez, M., Piccinelli, AL, *et al.*: Chemical constituents of red Mexican propolis. *J Agric Food Chem.*, **58**(4), 2209-2213, 2010. doi: 10.1021/jf100070w.
9. da Silva, RO., Andrade, VM., Bullé Rêgo, ES. *et al.*: Acute and sub-acute oral toxicity of Brazilian red propolis in rats. *J Ethnopharmacol.* **170**, 66-71, 2015.
10. Teixeira, É. W., Message, D., Negri, G. *et al.*: Seasonal Variation, Chemical Composition and Antioxidant activity of Brazilian Propolis Samples. *Evid Based Complement Alternat Med.* **7**(3), 307-315, 2010.
11. Salatino, A., Teixeira, É. W., Negri, G. *et al.*: Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *eCAM* **2**(1), 33-38, 2005. doi:10.1093/ecam/neh060.

12. Marcucci, M.C., Ferreres, F., Custódio, A.R. *et al.*: Evaluation of Phenolic Compounds in Brazilian Propolis from Different Geographic Regions. *Z. Naturforsch.* **55** c, 76-81, 2000.
13. Qureshi, A.A., Salser, W.A., Parmar, R. *et al.*: Novel tocotrienols of rice bran inhibit atherosclerotic lesions in C57BL/6 ApoE-deficient mice. *J. Nutr.* **131**(10), 2606-2618, 2001.
14. Nomura, T., Hano, Y., Fukai, T.: Chemistry and biosynthesis of isoprenylated flavonoids from Japanese mulberry tree. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.* **85**(9), 391-408, 2009.
15. 矢崎 一史：植物遺伝子の魅力. 生物工学, **89**(11), 653-655, 2011.
16. Aga, H., Shibuya, T., Sugimoto, T., *et al.*: Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(5), 945-946, 1994.
17. Matsuno, T., Saito, M., Matsumoto, Y., *et al.*: A new benzo- γ -pyran derivative isolated from propolis. *Z. Naturforsch. C.*, **53**, 1037-1039, 1998.
18. Hayashi, K., Komura, S., Isaji, N., *et al.*: Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3, 4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull.*, **47**(11), 1521-1524, 1999.
19. Shinohara, R., Ohta, Y., Hayashi, T., *et al.*: Evaluation of antilipid peroxidative action of propolis ethanol extract. *Phytotherapy Research*, **16**, 340-347, 2002.
20. Orhan, H., Marol, S., Hepen, I.F. *et al.*: Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicology*, **139**, 219-232, 1999.
21. Sun, F., Hayami, S., Haruna, S.: *In vivo* antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxides in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1462-1465, 2000.
22. Kwon, Y. S., Park, D. H., Shin, E. J. *et al.*: Antioxidant propolis attenuates kainite-induced neurotoxicity via adenosine A1 receptor modulation in the rat. *Neuroscience Letters*, **355**, 231-235, 2004.
23. Simões, L.M.C., Gregório, L.E., Da Silva Filho, A.A. *et al.*: Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**, 59-65, 2004.
24. Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa M., *et al.*: Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **9**:4, doi:10.1186/1472-6882-9-4, 2009.
25. Izuta, H., Narahara, Y., Shimazawa, M., *et al.*: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical Scavenging Activity of Bee Products and their constituents Determined by ESR. *Biol. Pharm. Bull.*, **32**(12), 1947-1951, 2009.
26. Chan, G. C-F., Cheung, K-W., Sze, D. M-Y.: The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinic. Rev. Allerg. Immunol.*, **44**, 262-273, 2013.
27. Kimoto, T., Koya, S., Hino, K., *et al.*: Renal carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice, and protection from it by Brazilian propolis and Artepillin C. *Pathology International*, **50**, 679-689, 2000.
28. Kimoto, T., Koya-Miyata, S., Hino, K., *et al.*: Pulmonary carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice and protection from it by Brazilian propolis and artepillin C. *Virchows Arch.* **438**, 259-270, 2001.
29. Shimizu, K., Das, S. K., Baba, M., *et al.*: Dietary artepillin C suppresses the formation of aberrant crypt foci induced by azoxymethane in mouse colon. *Cancer Letters*, **240**, 135-142, 2006.
30. Messerli, S. M., Ahn, M-R., Kunimasa, K., *et al.*: Artepillin C (ARC) in Brazilian green propolis selectively blocks oncogenic PAK1 signaling and suppresses the growth of NF tumors in mice. *Phytother. Res.* **23**, 423-427, 2009.
31. Lima, L. DC., Andrade, S. P., Campos, P. P., *et al.*: Brazilian green propolis modulates inflammation, angiogenesis and fibrogenesis in intraperitoneal implant in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**:177, 2014.
32. Shimizu, K., Das, S. K., Hashimoto, T., *et al.*: Artepillin C in Brazilian propolis induces G0/G1 arrest via stimulation of Cip1/p21 expression in human colon cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, **44**, 293-299, 2005.
33. Akao, Y., Maruyama, H., Matsumoto, K., *et al.*: Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from propolis on human tumor cell lines. *Biol. Pharm. Bull.* **26**(7)1057-1059, 2003.
34. Hirota, M., Matsuno, T., Fujiwara, T., *et al.*: Enhanced cytotoxicity in a Z-photoisomer of a benzopyran derivative of propolis. *J. Nat. Prod.*, **63**, 366-370, 2000.
35. Szliska, E., Zydowicz, G., Janoszka, B., *et al.*: Ethanolic extract of Brazilian green propolis sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Int. J. Clin. Oncol.*, **38**, 941-953, 2011.
36. Frión-Herrera, Y., Díaz-García, A., Ruiz-Fuentes, J., *et al.*: Brazilian green propolis induced apoptosis in human lung cancer A549 cells through mitochondrial-mediated pathway. *J. Pharm. Pharmacol.*, **67**, 1448-1456, 2015.
37. Ishiai, S., Tahara, W., Yamamoto, E., *et al.*: Histone deacetylase inhibitory effect of Brazilian propolis and its

- association with the antitumor effect in Neuro2a cell. *Food Science & Nutrition*, **2**(5): 565-570, 2014.
38. Nakashima, K., Murakami, T., Tanabe, H., *et al.*: Identification of a naturally occurring retinoid X receptor agonist from Brazilian green propolis. *Biochimica. et Biophysica. Acta.*, **1840**, 3034-3041, 2014.
 39. Carvalho, A. A., Finger, D., Machado, C. S., *et al.*: *In vivo* antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. *Food Chemistry*, **126**, 1239-1245, 2011.
 40. Aso, K., Kanno, S., Tadano, T., *et al.*: Inhibitory Effect of Propolis on the Growth of Human Leukemia U937. *Biol. Pharm. Bull.*, **27**(5), 727-730, 2004.
 41. Matsuno, T., Jung, S-K., Matsumoto, Y., *et al.*: Preferential cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (Artepillin C) isolated from propolis. *Anticancer Research*, **17**, 3565-3568, 1997.
 42. Nguyen, B.C.Q., Taira, N., Maruta, H., *et al.*: Artepillin C and other herbal PAK1-blockers: Effects on hair cell proliferation and related PAK1-dependent biological function in cell culture. *Phytotherapy Research*, **30**, 120-127, 2016.
 43. Liu, L., Li, H., Guo, Z. *et al.*: The Combination of Three Natural Compounds Effectively Prevented Lung Carcinogenesis by Optimal Wound Healing. *PLoS One*. **10**(11), e0143438, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0143438.
 44. Sinha, G., Sherman, L. S., Sandiford, O. A. *et al.*: Mesenchymal Stem Cell-Breast Cancer Stem Cell: Relevance to Dormancy. *Journal of Cancer Stem Cell Research*, **4**:e1001, 2016. DOI: 10.14343/JCSCR.2016.4e1001
 45. Na, H.K., Wilson, M.R., Kang, K.S., *et al.*: Restoration of gap junctional intercellular communication by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in a ras-transformed rat liver epithelial cell line. *Cancer Letters*. **157**(1), 31-38, 2000.
 46. Orsi, R. O., Sforcin, J. M., Funari, S.R.C., *et al.*: Effects of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against Salmonella Typhimurium. *International Immunopharmacology*, **5**, 359-368, 2005.
 47. 中村 純, 松香 光夫: 補完代替医療素材としてのプロポリス. 日本補完代替医療学会誌, **2**(1), 45-57, 2005.
 48. Pagliarone, A.C., Orsatti, C.L., Bufalo, M.C., *et al.*: Propolis effects on pro-inflammatory cytokine production and Toll-like receptor 2 and 4 expression in stressed mice. *Int. Immunopharmacol.*, **9**, 1352-1356, 2009.
 49. Pagliarone, A.C., Missima, F., Orsatti, C.L., *et al.*: Propolis effect on Th1/Th2 cytokines production by acutely stressed mice. *J. Ethnopharmacol.*, **125**, 230-233, 2009.
 50. Sa-Nunes, A., Faccioli, L.H., Sforcin, J.M.: Propolis: lymphocyte proliferation and IFN-gamma production. *J. Ethnopharmacol.*, **87**, 93-97, 2003.
 51. Kimoto, T., Arai, S., Kohguchi, M., *et al.*: Apoptosis and suppression of tumor growth by artepillin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Prev.*, **22**, 506-515, 1998.
 52. Kimoto, T., Aga, M., Hino, K., *et al.*: Apoptosis of human leukemia cells induced by Artepillin C, an active ingredient of Brazilian propolis. *Anticancer Res.*, **21**, 221-228, 2001.
 53. Machado, J. L., Assuncao, A.K.M., da Silva, M.C.P., *et al.*: Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, Article ID 157652, 2012.
 54. Orsatti, C.L., Missima, F., Pagliarone, A. C., *et al.*: Propolis immunomodulatory action *in vivo* on Toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. *Phytotherapy Research*, **24**(8), 1141-1146, 2010.
 55. Hashimoto, T., Tori, M., Asakawa, Y., *et al.*: Synthesis of two allergenic constituents of propolis and poplar bud excretion. *Z Naturforsch C*, **43**, 470-472, 1988.
 56. Konishi, Y.: Transepithelial transport of artepillin C in intestinal Caco-2 cell monolayers. *Biochimica. et Biophysica. Acta.*, **1713**, 138-144, 2005.
 57. Konishi, Y., Shimizu, M.: Transepithelial transport of ferulic acid by monocarboxylic acid transporter in Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 856-862, 2003.
 58. Konishi, Y., Kobayashi, S., Shimizu, M.: Transepithelial transport of *p*-coumaric acid and gallic acid in Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 2317-2324, 2003.
 59. Konishi, Y., Kobayashi, S.: Transepithelial transport of chlorogenic acid, caffeic acid, and their colonic metabolites in intestinal caco-2 cell monolayers. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2518-2526, 2004.
 60. Konishi, Y., Kobayashi, S.: Transepithelial transport of rosmarinic acid in intestinal Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 583-91, 2005.

61. Konishi, Y., Hitomi, Y., Yoshida, M., *et al.*: Absorption and bioavailability of Artepillin C in rats after oral administration. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 9928-9933, 2005.
62. Konishi, Y., Hitomi, Y., Yoshioka, E.: Intestinal absorption of *p*-coumaric and gallic acids in rats after oral administration. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2527-2532, 2004.
63. Konishi, Y., Hitomi, Y., Yoshida, M., *et al.*: Pharmacokinetic study of caffeic and rosmarinic acids in rats after oral administration. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4740-4746, 2005.
64. Hata, T., Tazawa, S., Ohta, S., *et al.*: Artepillin C, a major ingredient of Brazilian propolis, induces a pungent taste by activating TRPA1 channels. *PLOS ONE*, **7**(11), e48072, 2012.
65. Lee, Y-N., Chen, C-R., Yang, H-L., *et al.*: Isolation and purification of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) in Brazilian propolis by supercritical fluid extractions. *Separation and Purification Technology*, **54**, 130-138, 2007.
66. Paula, J.T., Aguiar, A.C., Sousa, I.M.O., *et al.*: Scale-up study of supercritical fluid extraction process for *Baccharisdracunculifolia*. *J. of Supercritical Fluids*, **107**, 219-225, 2016.
67. Paviani, L.C., Dariva, C., Marcucci, M.C., *et al.*: Supercritical carbon dioxide selectivity to fractionate phenolic compounds from the dry ethanolic extract of propolis. *Journal of Food Process Engineering*, **33**, 15-27, 2010.
68. Machado B.A.S., Barreto G. de A., Costa, A.S., *et al.*: Determination of Parameters for the Supercritical Extraction of Antioxidant Compounds from Green Propolis Using Carbon Dioxide and Ethanol as Co-Solvent. *PLoS ONE*, **10**(8), e0134489, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0134489.
69. Souza, J.P., Tacon, L.A., Correia, C.C., *et al.*: Spray-dried propolis extract, II: Prenylated components of green propolis. *Pharmazie* **62**(7), 488-492, 2007.
70. 寺尾 啓二, 石田 善行: 機能的食品・サプリメント開発のための化学知識. 日本食糧新聞社, 36-43, 2011.
71. Uekaji, Y., Jo, A., Urano, A., Terao, K.: *Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. 179-211, 2013.
72. Cho, Y., Gutierrez, L., Bordonaro, M., *et al.*: Effects of propolis and gamma-cyclodextrin on intestinal neoplasia in normal weight and obese mice. *Cancer Med.* 2016. doi: 10.1002/cam4.787

ビワ *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (バラ科 Rosaceae)

木枯らしが吹き、木の葉舞う師走を迎える頃、里山を歩いていると、この時期には珍しく青々とした葉をつけ、花が咲いている高さ5～6mの木を見かけます。これは、初夏、オレンジ色の実をつけるビワ（枇杷）です。ビワの原産地は中国南西部とされていますが、日本の古書にビワの記載があり、大分県、山口県、福井県には野生のものが確認されていることから、自生かどうかはハッキリしないものの古くから日本にあったと考えられます。現在、多くは果樹として栽培されていますが、たまに野生化して里山に生えている場合があります。本植物は高さ10mほどにもなる常緑高木で、『大葉王樹』といわれ、薬木であることを示しています。葉は互生、長さ15～30cm、葉柄は短く、濃い緑色をした倒卵形または楕円形で縁に粗い鋸歯があり、表面はつやがありますが、裏面は褐色の綿毛が密生しています。枝葉は春・夏・秋と年に3度伸長し、花は冬（11～翌年1月）、枝先にやや黄色味を帯びた白い5弁の小花を咲かせます。花はあまり目立ちませんが、かぐわしい香りを持っています。5～6月頃、大きな葉の陰に楽器の琵琶のような形をした一口大の多くの甘い実がなり、黄橙色に熟し、その中に1～2個の大きな種を持ちます。果実は花托が肥厚した偽果で、全体が薄い産毛に覆われています。長崎県、千葉県、鹿児島県などの温暖な地域での栽培が多く、果実は糖とクエン酸のほかにビタミンAに富んでいます。ビワは昔から、大きな種子のあるのが、難物でしたが、2006年、種なしびわである「希房」が品種登録されました。



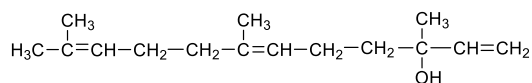
写真1 ビワ（花）



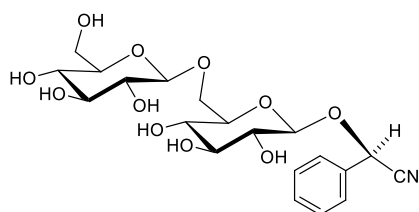
写真2 ビワ（果実）



写真3 ビワヨウ（枇杷葉）



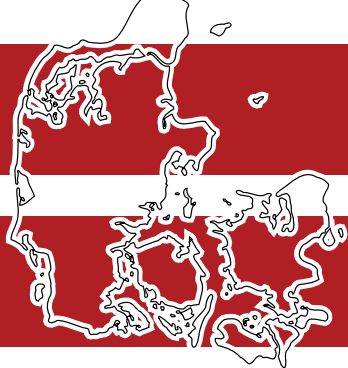
nerolidol



amygdalin

図1 成分(nerolidol, amygdalin)の構造式

葉を乾かしたものは生葉ビワヨウ（枇杷葉，*Eriobotryae Folium*）として第17改正日本薬局方に収載されており、漢方では鼻および咽頭部の炎症を鎮め、鎮咳、去痰、鼻炎、鼻閉塞を治すとしてしんいせいはいとう 辛夷清肺湯などに配剤されています。また、民間では打ち身や捻挫（ねんざ）に効果があり、風呂に入れると汗疹（あせも）に効き、皮膚を滑らかにするといわれています。葉の成分は nerolidol, amygdalin, クエン酸などで、ビワ茶として飲む他、直接、患部に貼ったり、葉の上にお灸を乗せる（温圧療法）とアミグダリンの鎮痛作用により神経痛に効果があるとされています。果実は食用としても親しまれ、咳、嘔吐、喉の渇きなどに良く、果実酒にも使われたりします。種子のみを使ったビワ種酒は、杏仁に共通する芳香を持ち、通の間で好まれています。材は硬く弾力性があり、木質も美しいので、昔から装飾品や杖として利用され、現在でも上記の薬用効果にあやかり、乾燥させて磨き縁起物の『長寿杖』と称して利用されています。また、激しく打ち合わせても折れることがないことから、剣道・剣術用の高級木刀として利用されています。



デンマークのチーズ

デンマークの食べ物といえば、チーズ、を思い浮かべる人が結構多いのではないのでしょうか。それもそのはず、デンマークとチーズを取り合わせた食品は、デンマークチーズ、デンマークのブルーチーズ、デンマークのチーズケーキ、などなど、結構身近に見かけることが多くあります。

デンマークは酪農が盛んで、酪農先進国として日本の酪農業の参考になることも多くあるようです。牛や羊などがのびのびと放牧されている風景はデンマークの典型的な風景で、北海道によく似ている風景だと言うデンマーク人もいます。デンマークの国土は北海道の半分ほどで、北海道よりもさらに北に位置していますが、暖流の影響で冬でもそんなに寒くはなく、夏は清々しいため、酪農にも適した土地だと言えます。デンマークの乳業企業であるアーラフーズは、小国デンマークの企業でありながら、全世界へビジネスを展開するグローバル企業です。

さて、酪農が盛んなデンマークですが、今回はデンマーク人のチーズ好きについて紹介します。日本でも最近では様々な種類のチーズがスーパーや専門店で買えるようになりましたが、デンマークのチーズ売り場は、形や種類、発酵年数など、本当にたくさんのチーズが並び、おいしそうに陳列されています。スーパーでは、あらかじめスライスされたり、小さい塊ごとにパッケージされたものが売られていますが、チーズ専門売り場のあるスーパーや専門店などに行くと、試食をした上で、必要な分だけ大きなチーズから切り取って買うことができます。フランスやイタリアなどからの輸入品のチーズもちろん手軽に手に入りますが、デンマーク国産のチーズもかなりの種類があり、用途に応じて、様々なチーズから自分の気に入ったものを選ぶことができます。カマンベールやブリーチーズといえばフランス、パルメザンチーズといえばイタリア、ですが、デンマークのチーズといえば、『ブルーチーズ』ではないのでしょうか。ブルーチーズは青カビを使って発酵させたチーズで、デンマークのチーズとして世界でも名の知られているチーズの一つで



スーパーのチーズ売り場に置かれた大きなチーズの塊

す。青カビを使っているため、その臭みはかなりの強さで、好ききらいが別れますが、好きな人にはその臭さがたまらない、病みつきになるようなチーズです。

そんなチーズですが、デンマーク人の日常生活にどのように登場するのでしょうか。

まずは朝ごはんや、昼ごはんなど、ブレッドロール（手のひらサイズの丸っこい形をしたパン）やスライスしたパンにバターを塗り、その上にチーズスライスをのせて食べます。スライスしたチーズはスーパーで10枚パックなどになっている（同じブランドでも成熟度を選び、成熟度が強いほど濃く、臭みが強い）ものを使う場合もあれば、チーズの大きな塊（10cmx5cmx5cm くらいの立方体などが多い）を、使う直前にスライスして使う場合もあります。自分でスライスする時には、チーズスライサーなどの便利なキッチン用具を使用するため、薄くしっかりスライスできます。ちなみに、パンにのせたチーズの上に、ジャムなどをつけて食べるのが好きな人も多く、バターにチーズそしてジャム、とカロリーや脂肪分の高い食事になるのでやや気をつけなければなりません。



チーズ屋さん、お店の周りに近づくとチーズの匂いがプーンとする



写真上のナイフはチーズをきる専用のナイフ、下の2つは、チーズをスライスするスライサー

パンとチーズの相性は抜群ですが、チーズは単独でも楽しめます。たとえば夕飯の前に、チーズとワインを楽しむ時などは、何種類かのチーズを並べて、それをチーズナイフで切りながら食べ、ワインと一緒に食べて楽しんだりします。レストランなどで食べる時には、それぞれのチーズにあったワイン（またはそれぞれのワインにあったチーズ）があるので、それを勧めてもらうのもいいかもしれません。そして、夕食のメインを食べ終わったら、デザートにチーズを食べることもあります。お腹がいっぱいになってデザートが食べたいな、という時に、チーズの盛り合わせをナッツやぶどうなどのフルーツと一緒に食べ、食事をしめくくるといふ具合です。

このようにデンマーク人の食文化の中に深く根付いているチーズ、日本でもこれからどんどんデンマークのチーズが普及していくかもしれません。

ILS コラム 「レバー Hi」

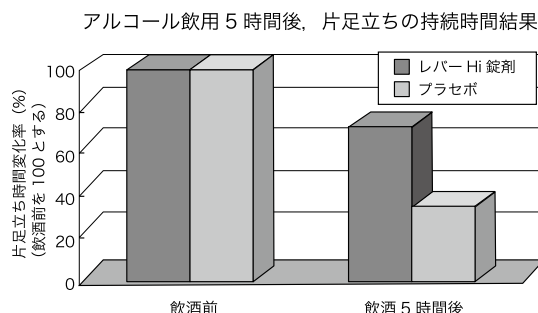
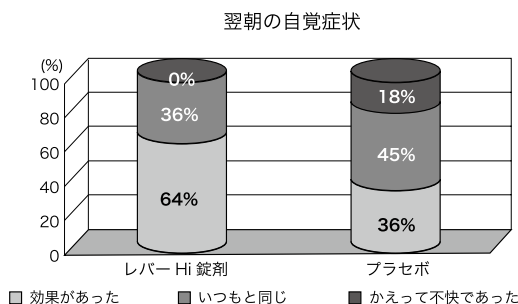
お酒の席に・滋養系・健康維持食品素材 肝臓エキス、レバーペプチド「レバー Hi」 I L S 株式会社

レバーは栄養価の高い食品であることが知られており、古くから栄養補給や健康維持に使用されてきました。しかしながら、特有の臭いやテクスチャーが嗜好の上嫌われる要因になることが多く、レバーの栄養は十分に生かされているとは言えません。

飽食の時代と呼ばれる現代では、肝臓に負担のかかるアルコールや脂肪の摂取が増加しており、それに伴い、肝臓病予備軍も増えつつあります。「レバー Hi」は、豚肝臓を酵素分解し、特有な臭気を除去した水溶性ペプチド粉末です。ペプチド粉末のため、吸収性に優れています。

様々な食品に応用可能で、滋養や健康維持系、お酒を飲む機会の多い方などに対応した天然食品素材です。

【レバー Hi 配合錠剤のアルコール飲用試験】



対象者：20 名 条件：「レバー Hi」として 160mg 配合錠剤あるいはプラセボを飲酒前に摂取。

「レバー Hi」の摂取により翌朝の自覚症状が良く、飲酒後の片足立ち時間も長くなった（社内試験より）

ILS 商品ラインナップ

商品名	特徴
レバー Hi	国内産豚レバーを酵素分解したタンパク質加水分解物

本コラムに関するお問い合わせは：
大塚化学グループ I L S 株式会社

〒302-0104 茨城県守谷市久保ヶ丘 1-2-1
TEL:0297-45-6342

消化管上皮を介する 食事性リゾリン脂質の病態生理学的作用 —その制御法に関する基礎研究—

日高麻由美 (HIDAKA Mayumi)¹ 堤 敏彦 (TSUTSUMI Toshihiko)² 徳村 彰 (TOKUMURA Akira)¹

¹ 安田女子大学薬学部衛生薬学, ² 九州保健福祉大学薬学部薬剤学

Key Words : 病態生理学 リゾリン脂質メディエーター 遺伝子組み換え

要旨

近年、創薬分野で注目を集めているリゾホスファチジン酸などのリゾリン脂質メディエーターは、野菜や穀類などの食物に含まれている。また、二本鎖リン脂質の消化管での分解の過程でも生成し、消化管粘膜に作用し生理学および病態生理学的作用を果たすと考えられている。本総説では、食事性リゾリン脂質が、直接、管腔側から小腸上皮細胞に及ぼす作用、並びに小腸上皮細胞による吸収・細胞内移行・基底膜側への分泌を介する作用に分け、近年の研究成果を概説する。また、apoA1 遺伝子組み換えトマト果実を用いリゾリン脂質メディエーターを標的分子とする最新の実用化研究を解説する。

はじめに

生体膜リン脂質から派生する一本鎖の代謝物は、Gタンパク質共役受容体や膜チャネルタンパク質への結合を介して細胞間メディエーターとして機能する^{1,2)}。このリン脂質メディエーター研究は今世紀に入り急速に進展する。基礎研究から臨床応用を目指した応用研究へと進み、スフィンゴシン 1-リン酸 (SIP) 受容体を標的とする創薬へと結実した。創食を目指すリン脂質メディエーター研究も追うように進行し、食物のリン脂質や消化管代謝物 [リゾホスファチジルコリン (LPC) やリゾホスファチジン酸 (LPA)] が管腔側から作用し生理学的作用を果たすことが明らかにされている³⁾。

1. 消化管の管腔側から作用するリゾリン脂質メディエーターの生理的役割

ホスホリパーゼ D に富むキャベツをヒトが咀嚼すると、口腔内でホスファチジン酸 (PA) が生成し胃に移動する⁴⁾。また、摘出マウス胃の内腔に加えた PA が分泌性ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) によりリゾホスファチジン酸 (LPA) に転換される⁵⁾。さらに、LPA 胃内注入は、ラットの浸拘束ストレス性胃潰瘍⁶⁾ やマウスのアスピリン性胃潰瘍⁵⁾ を軽減する。これらの結果は、食事性 LPA が消化管管腔側から保護的に働く可能性を示唆している。

ヒト小腸上皮細胞 (HT-29-CL19A) の頂端側の形質膜に 2 型 LPA 受容体 (LPA₂) が発現しており、選択的に頂端膜に局在する Na⁺/

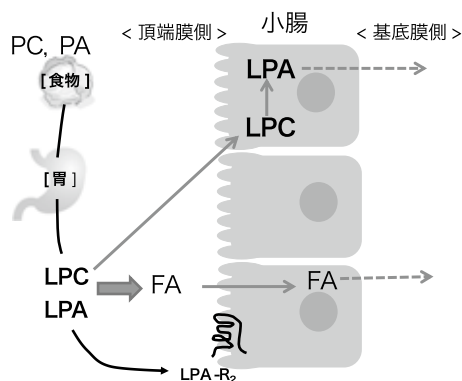


図1 消化管の管腔内で産生するリゾリン脂質メディエーターの作用発現の模式図

FA 脂肪酸, LPA リゾホスファチジン酸, LPA-R₂ リゾホスファチジン酸受容体2, LPC リゾホスファチジルコリン, PA ホスファチジン酸, PC ホスファチジルコリン

H⁺ exchanger regulatory factor-2 と cystic fibrosis transmembrane conductance regulator が PDZ モチーフを介して LPA₂ が機能的に連関することが示されている⁷⁾。また、マウス胃内粘膜表面を形成している細胞の形質膜頂端側に LPA₂ が局在していることから、食品 LPA や上部消化管で PA より派生する LPA に LPA₂ が生理応答することが示唆されている（図1）⁵⁾。

2. 食事性脂肪と循環血液中のリゾリン脂質メディエーター濃度との関連性

どの程度のリゾリン脂質を食事配合すると、体液や組織のリゾリン脂質メディエーター濃度は変動するのであろうか？ 1 g カプセル（[エイコサペンタエン酸 [EPA, 20:5 (n-3)] エチルエステルと ドコサヘキサエン酸 [DHA, 22:6 (n-3)] エチルエステル）を1日4錠、アスピリンと一緒に28日間服用した志願者では、20:5 (n-3)-, 22:5 (n-3)-, 22:6 (n-3)- LPC 濃度が高値、22:4 (n-6)-LPC 濃度が低値であること⁸⁾、並びに、1日4gの魚油摂取とアスピリン服用（28日間）の場合では、20:5 (n-3)-, 22:6 (n-3)-LPC の低値のみならず多くの LPA 分子種の濃度が対照群に比べて高値である⁹⁾との興味深い結果が報告されている。

3. apoA1 様ペプチドの経口摂取がマウス大腸がんや動脈硬化の進行を抑制する

膵臓から分泌される PLA₂ IB 遺伝子を欠損するマウスの消化管内でリン脂質は普通に分解されるが、肝、心と筋肉でのグルコース取り込みが抑制され高血糖となり、インシュリン刺激によるグリコーゲン合成が抑制されている^{10, 11)}。リゾリン脂質を消化管内に注入すると PLA₂ IB 欠失による高血糖やインシュリン抵抗性増大は解消されるので、腸管上皮細胞で吸収されるリゾリン脂質が、直接あるいは代謝変換を経て何らかの機序で血糖やインシュリン抵抗性の制御に寄与しているものと思われる。

アポリポタンパク AI (apoAI) と比べてアポリポタンパク AI 様ペプチド 4F (Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH₂) は LPA を結合する親和性が著しく高く、大腸癌易発性の C57BL/6J-APC^{Min/+} に経口投与（100 mg/kg/day, 8週間）すると、血漿中の LPA 濃度が低下すると共に腸の腫瘍数が減少した¹²⁾。4F の低密度リポタンパク受容体欠損マウス (LDLR^{-/-}) マウスへの経口投与で動脈硬化の症状が軽減されるとの結果から、300 mg や 500 mg の 4F を添加した低脂肪食を冠動脈患者に供する臨床介入試験が行われ、それぞれ、4時間および2時間後に採取した血液の高密度リポタンパク質 (HDL) が有意に改善していた¹³⁾。しかし、冠動脈疾患を有する患者の静脈内（7日間）や皮下（28日間）に4Fを投与しても、HDL 炎症性指標は改善されていなかった¹⁴⁾。同じ研究グループは、4F の静脈内投与や皮下投与の場合でも、4F が効果を発揮する部位が小腸であると推定した¹⁵⁾。次に、彼らは、動物実験に戻り、別の apoAI 様ペプチド 6F (D-W-L-K-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F) を遺伝子組み換え技術で高発現させたトマト果実の凍結乾燥粉末を含む西欧食 (2.2%) で LDLR^{-/-} マウスを13週間飼育した。その結果、大動脈硬化度が50%低下し小腸組織や血漿の不飽和 LPA 濃度や小腸の 18:2-LPA 濃度が低下することが明らかとなった¹⁶⁾。

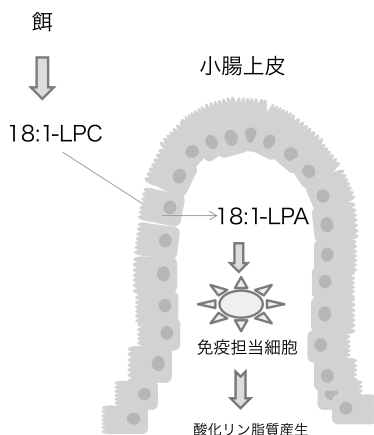


図2 小腸上皮細胞によるLPCの吸収とLPAへの変換を介する腸固有層での酸化リン脂質産生と炎症性遊離細胞活性化の模式図

続いて、通常食に0.0001%の18:2-LPAを、或いはその1000倍濃度の18:1-LPCを添加した餌で13週間飼育すると、動脈硬化病巣面積が増加することも報告している^{17,18)}。autotaxinのリゾホスホリパーゼD活性を強力に阻害するPF8380を餌に添加しておくことで18:1-LPC経口投与の効果が抑制されるので小腸におけるautotaxinの関与が示唆されている¹⁸⁾。最近、同じ研究グループは、18:0-LPCではなく18:1-LPCを添加した通常食でLDLR^{-/-}マウスを飼育すると、空腸刷子縁部での酸化リン脂質産生が

亢進し炎症性細胞浸潤が誘導されるが、L-4Fと類似のapo-AI様ペプチド(6F)を高発現させた遺伝子改変トマトの凍結乾燥粉末の37倍濃縮品を0.06%配合した西欧食餌(ヒトへの実用のため3カップ、1日3回を想定)でLDLR^{-/-}マウスを飼育すると、これら異常値が解消されると述べている¹⁹⁾。彼らは、小腸での不飽和LPCから派生する不飽和LPAが固有層に移行し免疫細胞を賦活し、この一連の過程の早い段階で6FがLPC取り込み・移行を抑制するという興味ある仮説を提唱している(図2)。小腸の管腔側から吸収性上皮細胞に接近するLPCが細胞膜バリアをどのようにして突破し、その細胞内でどのような酵素系でLPAに転換され、どのような機構で細胞から固有層に遊出していくのであろうか。このグループによるさらなる研究を期待したい。

4. 腸管上皮の吸収性細胞におけるリゾリン脂質の細胞内外での代謝と細胞内吸収と細胞外分泌

我々は、小腸様に分化したヒト大腸癌由来のCaco-2細胞の頂端側から分泌されるリゾホスホリパーゼAがLPCとLPAをグリセロホスホコリン・遊離脂肪酸とグリセロリン酸・遊離脂肪酸にそれぞれ分解することを報告した²⁰⁾。

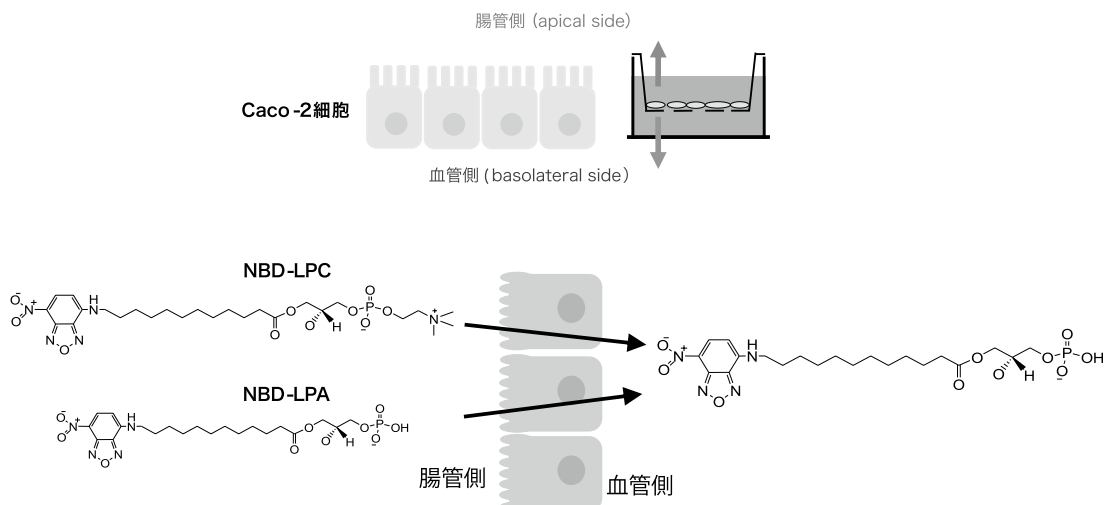


図3 蛍光性NBDを含有するLPCとLPAのCaco-2細胞通過の測定系

この分化 Caco-2 細胞をトランスウェルチャンバー上で単層培養し、頂端膜側あるいは基底膜側のチャンバーに蛍光標識 (NBD) した $1\ \mu\text{M}$ LPC あるいは LPA (図 3) を添加し 1 時間インキュベート後、両チャンバーの培養上清と細胞から得た脂質抽出物を TLC で分析した (図 4)。これらリゾリン脂質はリゾホスホリパーゼ A の作用を受けて遊離脂肪酸 (FA) に転換されるが、その割合は頂端膜側に添加した方が高かった。大部分の生成 NBD-FA は頂端膜側の培養上清に存在しているので、リゾホスホリパーゼ A/MG リパーゼは頂端膜に結合しているエクト酵素である可能性が高い。NBD-FA は細胞内には少量しか蓄積せず、反対側の培養上清に徐々に分泌されている。興味あることに、NBD-LPC を添加した場合、低割合ではあるが細胞内に NBD-LPA が検出されているので、リゾホスホリパーゼ A による分解を免れた NBD-LPC が何らかの機構で細胞内に取り込まれ、そこでリゾホスホリパーゼ D により LPA へと代謝変換するものと思われる。また、NBD-LPA を頂端膜側に加えた場合でも、大部分は FA に転換され、細胞内には NBD-LPA が少量検出されている。NBD-LPA が基底膜側から細胞間質に分泌されるかどうかは、この実験からは明らかにされていない。

おわりに

ある種のリゾ脂質メディエーターの受容体は小腸上皮細胞の頂端側膜に結合しており管腔側から接近するアゴニストに感応して生理作用を発揮する。それゆえ、LPC や LPA 濃縮製品は

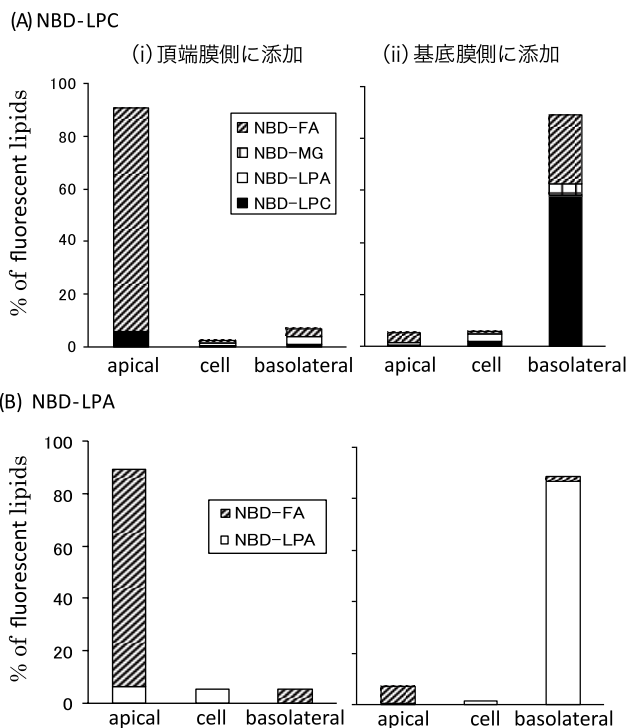


図4 Caco-2細胞によるNBD-LPCとNBD-LPAの取り込み、代謝と代謝物の分泌²⁰⁾

トランスウェル上で培養した Caco-2 細胞単層の頂端膜側あるいは基底膜側の培養液に $1\ \mu\text{M}$ の蛍光性 NBD-LPC (A) 或いは NBD-LPA (B) を添加 1 時間後、両培養液と細胞回収液から修正 Bligh と Dyer 法で脂質を抽出した。脂質抽出物の薄層クロマトグラフィーを行い主要な脂質バンドの蛍光を測定した。図には、NBD-LPC、NBD-LPA、NBD-fatty acid (NBD-FA) と NBD-monoacylglycerol (NBD-MG) の全蛍光性脂質量に対する % を示す。この図は、文献 20 に掲載の図 6-A を一部改変し作成した。

食品サプリメントとして開発可能であるが、これらリゾリン脂質の消化管への病態生理学的作用や体内波及効果に関する基礎・応用研究を並行させる必要がある。現在、消化管でのリゾリン脂質の吸収・運搬・代謝の制御という新しい視点での食品資材や食事療法研究が進んでおり、今後の展開に期待したい。

参考文献

1. Tokumura A: A family of phospholipid autacoids: occurrence, metabolism and bioactions. *Prog. Lipid Res.* **34**, 151-184, 1995.
2. Makide K, Uwamizu A, Shinjo Y, Ishiguro J, Okutani M, Inoue A and Aoki J: Novel lysophospholipid receptors: their structure and function. *J. Lipid Res.* **55**, 1986-1995, 2014.
3. Tokumura A: Physiological significance of lysophospholipids that act on the lumen side of mammalian lower digestive tracts. *J. Health Sci.* **57**, 115-128, 2011.
4. Tanaka T, Horiuchi G, Matsuoka M, Hirano K, Tokumura A, Koike T and Satouchi K: Formation of lysophosphatidic acid, a wound-healing lipid, during digestion of cabbage leaf. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 1293-1300, 2009.
5. Tanaka T, Morito K, Kinoshita M, Ohmoto M, Urikura M, Satouchi K and Tokumura A: Orally administered phosphatidic acids and lysophosphatidic acids ameliorate aspirin-induced stomach injury in mice. *Dig. Dis. Sci.* **58**, 950-958, 2013.
6. Adachi M, Horiuchi G, Ikematsu N, Tanaka T, Terao J, Satouchi K and Tokumura A: Intragastrically administered lysophosphatidic acids protect against gastric ulcer in rats under water-immersion restraint stress. *Dig. Dis. Sci.* **56**, 2252-2261, 2011.
7. Li C, Dandridge KS, Di A, Marrs KL, Harris EL, Roy KS, Jackson JS, Makorova NV, Fujiwara Y, Farrar PL, Nelson DJ, Tigyi G and Naren AP: Lysophosphatidic acid inhibits cholera toxin-induced secretory diarrhea through CFTR-dependent protein interactions. *J. Exp. Med.* **202**, 975-986, 2005.
8. Block RC, Duff R, Lawrence P, Kakinami L, Brenna JT, Shearer GC, Meednu N, Mousa S, Friedman A, Harris WS, Larson M and Georas S: The effects of EPA and DHA, and aspirin ingestion on plasma lysophospholipids and autotaxin. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **82**, 87-95, 2010.
9. Abdolahi A, Georas SN, Brenna JT, Cai X, Thevenet-Morrison K, Phipps RP, Lawrence P, Mousa SA and Block RC: The effects of aspirin and fish oil consumption on lysophosphatidylcholine and lysophosphatidic acids and their correlates with platelet aggregation in adults with diabetes mellitus. *Prostaglandins Leukot. Essnt. Fatty Acids* **90**, 61-68, 2014.
10. Labonte ED, Kirby RJ, Schildmeyer NM, Cannon AM, Huggins KW, and Hui DY: Group 1B phospholipase A₂-mediated lysophospholipid absorption directly contributes to postprandial hyperglycemia. *Diabetes* **55**, 935-941, 2006.
11. Hui DY: Phospholipase A₂ enzymes in metabolic and cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol.* **23**, 235-240, 2012.
12. Su F, Grijalva V, Navab K, Ganapathy E, Meriwether D, Imaizumi S, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST and Farias-Eisner R: HDL mimetics inhibit tumor development in both induced and spontaneous mouse models of colon cancer. *Mol. Cancer Ther.* **11**, 1311-1319, 2012.
13. Bloedon LT, Dunbar R, Duffy D, Pinell-Salles P, Norris R, DeGroot BJ, Movva R, Navab M, Fogelman AM and Rader DJ: Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral apoA-I mimetic peptide D-4F in high-risk cardiovascular patients. *J. Lipid Res.* **49**, 1344-1352, 2008.
14. Watson CE, Weissbach N, Kjemis L, Ayalasomayajula S, Zhang Y, Chang I, Navab M, Hama S, Hough G, Reddy ST, Soffer D, Rader DJ, Fogelman AM and Schecter A: Treatment of patients with cardiovascular disease with L-4F, an apoA-I mimetic, did not improve select biomarkers of HDL function. *J. Lipid Res.* **52**, 361-373, 2011.
15. Navab M, Reddy ST, Anantharamaiah GM, Imaizumi S, Hough G, Hama S and Fogelman AM: Intestine may be a major site of action for the apoA-I mimetic peptide 4F whether administered subcutaneously or orally. *J. Lipid Res.* **52**, 1200-1210, 2011.
16. Chattopadhyay A, Navab M, Hough G, Gao F, Meriwether D, Grijalva V, Springstead JR, Palgnachari MN, Namiri-Kalantani R, Su F, Van Lenten BJ, Wagner AC, Anantharamaiah GM, Farias-Eisner R, Reddy ST, and Fogelman AM: A novel approach to oral apoA-I mimetic therapy. *J. Lipid Res.* **54**, 995-1010, 2013.
17. Navab M, Hough G, Buga GM, Su F, Wagner AC, Meriwether D, Chattopadhyay A, Gao F, Grijalva V, Danciger JS, Van Lenten BJ, Org E, Lusis AJ, Pan C, Anantharamaiah GM, Smyth SS, Reddy ST and Fogelman M: Transgenic 6F tomatoes act on the small intestine to prevent systemic inflammation and dyslipidemia caused by Western diet and intestinally derived lysophosphatidic acid. *J. Lipid Res.* **54**, 3403-3417, 2013.
18. Navab M, Chattopadhyay A, Hough G, Meriwether D, Fogelman SI, Wagner AC, Grijalva V, Su F, Anantharamaiah GM, Hwang LH, Faull KF, Reddy ST and Fogelman AM: Source and role of intestinally derived lysophosphatidic acid in dyslipidemia and atherosclerosis. *J. Lipid Res.* **56**, 871-887, 2015.
19. Chattopadhyay A, Navab M, Hough G, Grijalva V, Mukherjee P, Fogelman HR, Hwang LH, Faull KF, Lusis AJ, Reddy ST and Fogelman AM: Tg6F ameliorates the increase in oxidized phospholipids in the jejunum of mice fed unsaturated LysoPC or WD. *J. Lipid Res.* **57**, 832-847, 2016.
20. Inaba M, Murota K, Nikawadori M, Kishino E, Matsuda R, Takagi M, Ohkubo T, Tanaka T, Terao J. and Tokumura A: Extracellular metabolism-dependent uptake of lysolipids through cultured monolayer of differentiated Caco-2 cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1841**, 121-131, 2014.

微粉碎された米粉の流れやすさ

五月女 格 (SOTOME Itaru) *

* 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門

Key Words：ジェットミル ハンマーミル Carr の流動性指数

はじめに

普段の食生活においてはあまり意識することはないかもしれないが、私たちの食べ物の多くは様々な粉から作られている。例えば、パン、麺類、ケーキや団子等の菓子類のように、その原料の大部分が粉末であるものもあれば、インスタントスープやインスタントコーヒー、茶のように造粒された粉末を湯や水に溶かして飲むものもある。また調味料や添加剤等は粉末状のものが多く、スーパーマーケット等で販売されている加工食品を見渡すと、粉末が一切使われていない商品のほうが少数かもしれない。

これほどまでに私たちの食生活に粉が入り込んでいる理由としては、粉末化により食品素材の利用方法が広がり利便性が向上するという点が挙げられる。代表的な例として穀粉が挙げられるが、パンや麺は小麦を製粉することによって、加工が可能になる製品である。また、粉末化により素材の混合や溶解が容易になる、素材からの成分抽出の効率が向上する等の利点も挙げられる。

しかしながら一方で食品素材の微粒化は、これまでは無かった問題を引き起こす恐れもある。粉体は粒子が小さくなるにしたがい流動性が悪くなり、また粉立ちしやすく取扱い

が難しくなるとされている。食品素材の粉体の物理的特性は非常に複雑であり、粒子径と流動性の関係は食品の成分によって変化するとされるが¹⁾、食品素材等においてもこの傾向が見られることが報告されている²⁻⁵⁾。流動性が悪い食品粉末を使用した場合、加工ラインのホッパー、フィーダ、輸送パイプあるいは攪拌機等の装置内部で粉詰まりが起こり、加工ラインを停止させる可能性が高い。また粉立ちしやすい粉末は粉塵爆発や人体への悪影響も懸念されることから、食品素材も微粒化する場合は、前述のような問題に注意しながら粉碎・製粉する必要がある。

ところで農林水産省では2007～2011年度にかけて、委託研究プロジェクトとして「食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発」が行われた。このプロジェクトではコメ等の代表的な食材について、ナノスケールあるいは従来製品より微細に加工された試料の試作が行われ、またその性質についての調査も行われた。コメは日本では伝統的に主食とされ、粒食のみならず古くから米粉としても利用されてきたが、当時、米粉の製粉方法等を改良することによってパン等、より多様な製品に加工する例が増えてきており^{6,7)}、微粉碎等の新たな技術を

利用することにより更なる応用の広がりが期待されていた。一方で、前述のような微粒化された食品素材が引き起こす様々な問題も懸念されており、その調査の必要性が議論されていたこともあり、このプロジェクトが実施された。

著者らはこのプロジェクトにおいて、従来よりも微粒化された米粉試料の試作と、その流動性や粒子形状等、物理的・機械的性質の調査を担当した⁸⁾。米粉製品の粒子サイズは水挽きされた白玉粉等を除けば、従来では平均で 100 μm 以上のものがほとんどで、小さなものでも 50 μm 程度であったが、このプロジェクトでは気流式粉碎机である超音速ジェットミルおよび衝撃式粉碎机であるハンマーミルを用いて平均粒子径が 3 ~ 40 μm および 40 ~ 120 μm 程度の米粉を試作した。また試作した米粉について Carr の流動性指数を測定し、粉碎方法や粒度と米粉の流れやすさ等の関係について評価した。本稿ではこれらの研究結果の一部について紹介する。

1. 微粒化米粉の試作

微粒化米粉の試作に用いた超音速ジェットミルの粉碎室部分の概略図を図 1 に示す。この粉碎机はコンプレッサから供給された圧縮空気をノズルから噴射することにより高速の気流を生成し、原料粒子を高速気流中に投入して加速し、粒子を衝突板あるいは他の粒子と衝突させて粉碎する^{9, 10)}。圧縮空気を噴射するノズルはド・ラバルノズルあるいはラバルノズルと呼ばれており、くびれを持った構造をしている。一定

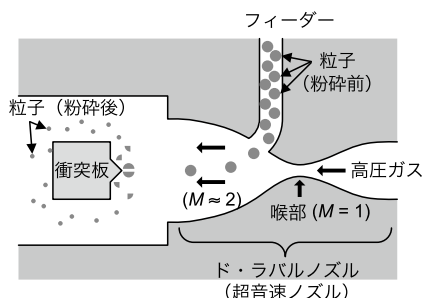


図1 超音速ジェットミル粉碎室断面の概略図

以上の圧力を持った気体をこのノズルから噴射すると、くびれの部分で気流の速度は音速になる (マッハ数 $M=1$)。くびれを通過した後、ノズルの広がった部分で気体は膨張・加速し超音速になるが、マッハ 2 程度まで加速することが可能である。同様の形状のノズルはロケットエンジンや火力発電所等で使用される蒸気タービンにも使用されている。

ジェットミルでは断熱膨張により気流が温度低下を起こしているため、粉碎される材料の温度は比較的低温に保たれる。またこの装置では粉碎された粉末は分級機に送られ、粗い粒子は分離されて再度、原料とともに粉碎されるため、サイズのそろった粉末を調製することが可能である。調製する粉末のサイズを変える場合は、ノズルから噴射する空気の圧力やノズルから衝突板までの距離、分級機の設定、時間当たりの原料の供給量等を調整する。

次に衝撃式粉碎机の一種であるハンマーミルの概略図を図 2 に示す。この粉碎机では粉碎室内部にて、12 個の可動式ハンマーが取り付けられた円盤が 8000 rpm (ハンマー先端速度は約 80 m/s) で回転し、原料はハンマーや粉碎机内部に設置されたライニングとの衝突によって粉碎される。粉碎された粒子は粉碎室下部に設置されたスクリーンを通して粉碎室外に排出され試料容器に捕集される。粉碎時にはハンマー、ライニング等と粉体の摩擦により大量の熱が発生するため、粉碎室はジャ

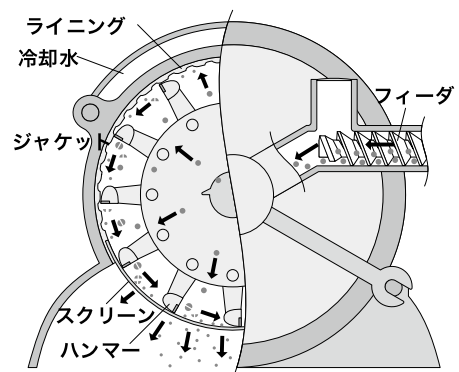


図2 ハンマーミルの概略図 (部分断面図)

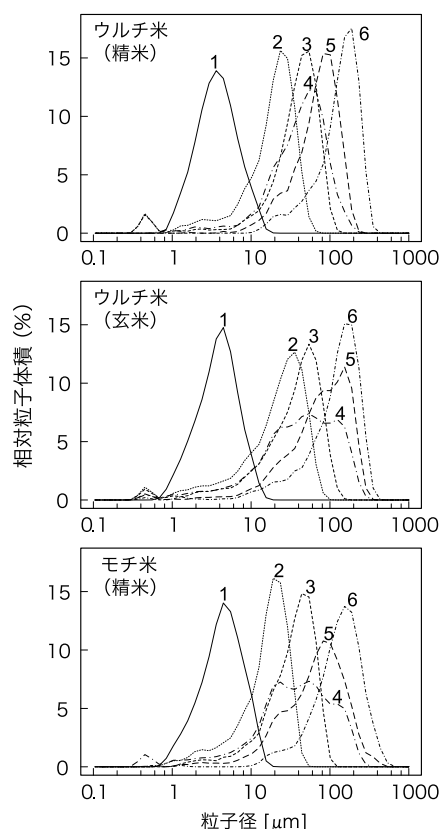


図3 粉砕された米粉の粒度分布

1～3: ジェットミルによる粉砕,
4～6: ハンマーミルによる粉砕

ケット構造を有しており、冷却液を循環させ粉体の温度上昇を防ぐ対策が施されている。ハンマーミルは様々な食品素材の粉砕に広く用いられている¹¹⁾。

この粉砕機で粉砕する粉末のサイズを小さくする場合は、粉砕室下部のスクリーンをオープニングの小さいものに変更するか、時間当たり原料供給量を減らせばよい。しかしながらスクリーンのオープニングを小さくすると粉砕室内部の温度が上昇しやすく、条件によっては粉砕物が発火する場合もあるので注意が必要である。粉砕室の温度が上昇する場合は、冷却を強化するか一定時間（数分）をおいてインターバル運転するなどの対策をとる必要がある。

ジェットミルとハンマーミルを用いて試作した米粉の粒度分布を図3に示す。原料にはウル

チ米（コシヒカリ）の玄米，精米，またモチ米（マンゲツモチ）の精米を使用しており，それぞれの結果を示している。ジェットミルでは平均粒子径（体積中位径 d_{50} ）の目標値を3，20，40 μm とした。体積中位径 d_{50} とは，ある粉をその径より小さい粒子と大きい粒子により分けるとちょうど半分ずつに分けられる径を表しており，粉の粒子サイズを表す代表的な指標の一つとなっている。

平均粒子径3 μm の米粉は，ここで使用したジェットミルで最も細かく粉砕しうる設定で得られたサイズであった。通常はジェットミルではコンプレッサからの圧縮空気超音速気流を発生させるが，このほかに圧縮ヘリウムガスにより超音速気流を発生させるヘリウムジェットミルという粉砕機がある。気体の分子量が小さい程，気流の速度は速くなるため，ヘリウムジェットミルを使用するとより細かく粉砕することができる。データの図示は割愛するが，ヘリウムジェットミルを米の粉砕に使用して見たところ，粉砕された米粉の平均粒子径は約2 μm となったが，水や溶媒などを使用しないドライな条件での粉砕である乾式粉砕では，米粉の平均粒子径の下限は2～3 μm と考えられる。一方，水などの液体に粉末を分散させた状態で粉砕する湿式粉砕では，サブミクロンからナノスケールの米粉も調製可能である¹²⁾。

ジェットミルで粉砕した米粉のサイズは比較的揃っているが，これは粉砕機が分級機を備えており，一定サイズ以下の粉のみが取り出されるようになっているためである。ハンマーミルでは平均粒子径の目標値を40，70，120 μm としている。ハンマーミルでは粒子を細かくしようとすると粒度分布が広がる傾向がある。ハンマーミルではスクリーン穴径を小さくすると粒子の粉砕室内における平均滞留時間が長くなり，粉砕された粒子の一部が更に粉砕を受け微粒化することにより平均粒子径が小さくなっていると考えられる。

2. 粉の流れやすさの評価

2-1. Carr の流動性指数とは？

扱おうとしている粉の流動性が低い場合、粉がホッパーやタンク、フィーダ等の装置内で固まって閉塞してしまう恐れがあることから、その粉がどの程度流れやすいのか、あるいは詰まりやすいのかを把握するところから、対策を始めることになる。流動性が悪い粉を対象とする加工ラインを組むような場合は、粉に振動を与えながら流す機能を有するホッパーを選定したり、粉末と接する部分に特殊なコーティングを施したりするような対策をすることになる。粉の流れやすさを評価する方法はいくつか知られているが、その中の一つに Carr によって考案された流動性指数が挙げられる^{13,14)}。Carr の流動性指数は粉末試料について、①安息角、②圧縮度、③スパチュラ角、④均一度もしくは凝集度、の4項目を測定し、その結果から表1に示した換算表を使用して0～100の点数をつけ

て、粉の流れやすさを評価する。Carr は2800種以上の乾燥した試料について試験した結果から粉末の流動性について分類を行ったとしており、流動性について Excellent (極めて良い) から Very, very poor (極めて悪い) まで7段階に分類しており、流動性の程度や必要となる対策を示している。流動性指数の測定方法について書かれた文献が出版されたのが1965年となっており、本稿執筆時点で既に50年以上が経過しているが、Carr の流動性指数は粉体の流動性評価に現在も使用されており、また今後も使用され続けると考えられる。

2-2. 安息角の測定

粉を上から一点に落とし続けると粉が堆積していき、やがて粉の山ができる。粉末を円錐状の山に積み上げていくと、山が高くなり斜面は急になっていく。斜面がある程度より急になると、積み上げた粉は自重に耐えられなくなり、

表1 Carr の流動性指数とその計算のための換算表

流動性の程度と 架橋防止対策	流動性指数		安息角		圧縮度		スパチュラ角		均一度*		凝集度**	
	点	度	点	%	点	%	点	度	点	%	点	%
極めて良い 対策は不要	90～100	<25	25	<5	25	<25	25	1	25			
		26～29	24	6～9	23	26～30	24	2～4	23			
		30	22.5	10	22.5	31	22.5	5	22.5			
良い 対策は不要	80～89	31	22	11	22	32	22	6	22			
		32～34	21	12～14	21	33～37	21	7	21			
		35	20	15	20	38	20	8	20			
まあまあ良い バイブレータが 必要な場合がある	70～79	36	19.5	16	19.5	39	19.5	9	19			
		37～39	18	17～19	18	40～44	18	10～11	18			
		40	17.5	20	17.5	45	17.5	12	17.5			
どうにか流れる 限界点 架橋が起こる	60～69	41	17	21	17	46	17	13	17			
		42～44	16	22～24	16	47～59	16	14～16	16			
		45	15	25	15	60	15	17	15	<6	15	
悪い 攪拌・振動が必要	40～59	46	14.5	26	14.5	61	14.5	18	14.5	6～9	14.5	
		47～54	12	27～30	12	62～74	12	19～21	12	10～29	12	
		55	10	31	10	75	10	22	10	30	10	
とても悪い より強い 攪拌が必要	20～39	56	9.5	32	9.5	76	9.5	23	9.5	31	9.5	
		57～64	7	33～36	7	77～89	7	24～26	7	32～54	7	
		65	5	37	5	90	5	27	5	55	5	
極めて悪い 特殊な装置 技術が必要	0～19	66	4.5	38	4.5	91	4.5	28	4.5	56	4.5	
		67～89	2	39～45	2	92～99	2	29～35	2	57～79	2	
		90	0	45<	0	99<	0	35<	0	79<	0	

* 顆粒または顆粒状の粉に対して使用する。 ** 粉末または凝集性が測定できる素材に対して使用する。

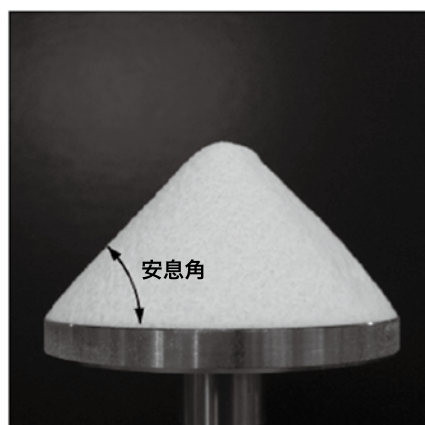


図4 安息角の測定例

山の斜面を滑り落ちようになる。粉を積み上げ続けると、山の斜面の角度は一定値に落ち着くようになるが、このときの角度を安息角として測定する。図4に測定例を示したが、ここでは篩を通した粉を漏斗で、直径80 mmの金属製円盤の中央に注入している。この測定方法は注入法と呼ばれよく使用されている方法であるが、他には底に穴の開いた容器から粉を落とし、容器に残った粉の斜面の角度を測定する排出法や、粉の入った容器を傾けて、粉を滑り落として斜面を作る傾斜法などの測定方法がある。

粉の流動性が良い場合は、山の斜面がなだらかな状態でも、粉が斜面を滑り落ちることから、安息角は小さくなる。逆に流動性が悪い粉の場合は、山の斜面が急になってもなかなか粉が滑り落ちず山が高くなるため、安息角は大きくなる。試作した米粉の安息角を測定した結果を図5に示す。全体的に粒子が細くなるほど安息角は大きくなっており、一般的な粉末と同様に微粒化されるほど流動性が悪くなっていると言える。ただし図5をよく見ると、平均径40 μm 付近のジェットミルで調製された米粉とハンマーミルで調製された米粉では同様なサイズでも安息角に大きな違いがあることがわかる。

この違いの原因としては、まずそれぞれの米粉の粒度分布の広さの違いが挙げられる。同様な平均径であっても、ハンマーミルで調製された米粉は幅の広い粒度分布を持っているが、一

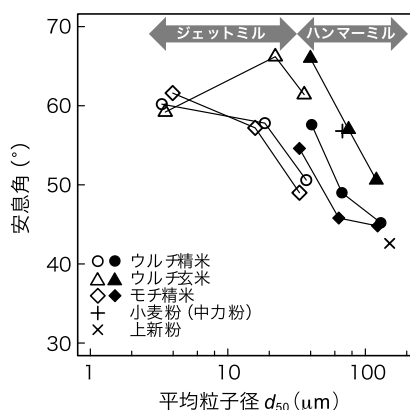


図5 米粉の粉砕方法・粒度と安息角の関係

般的に粉末はいろいろなサイズの粉が混ざり合ったほうが流動性は悪くなるとされている。これは大きな粒子の隙間に小さな粒子が入り込み、“ガッチリ”と粒子同士がかみ合うからであると言われている。しかしながらそれぞれの粉砕方法による米粉について、後述する粉の粒度分布の幅である均一度を比較すると、その差は流動性に大きく影響を与えるほどのものでもないことから、粒度分布の幅の違い以外にも安息角に影響している因子があると考えられる。他に安息角に違いが生じた理由としては、それぞれの粉砕機にて原料が受ける熱や力の影響の違い等が考えられる。粉砕中に熱等により粒子表面の付着性などが変化している可能性も考えられる。

ところで図5には市販の小麦粉(中力粉)と上新粉の安息角を測定した結果も参考に示してある。上新粉の流動性は良いが、小麦粉は同程度のサイズの精米粉と比較して安息角が大きく流動性が低めであると言える。

2-3. 圧縮度の測定

粉体の圧縮度は、粉がフワツとしたゆるい状態とギュッと締まった状態での密度の比率を表している。粉を篩ってフワツとした状態にして測定したかさ密度は「ゆるみかさ密度」(Aerated/Loose bulk density) ρ_a と呼ばれ、粉を締め固めた状態にして測定したかさ密度は「かた

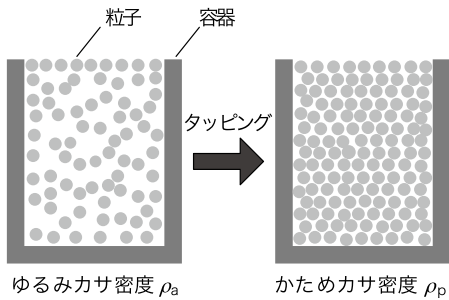


図6 カサ密度の測定方法

めカサ密度」(Packed bulk density) ρ_p と呼ばれる。圧縮度 C_p は以下の式で計算される。

$$C_p = 100 (\rho_p - \rho_a) / \rho_p \quad (1)$$

圧縮度は粉がどれだけ空気を含むことができるか、あるいは圧縮によりどれだけ粉の容積を縮めることができるかを表している。カサ密度そのものは粉末の流動性との相関は低い、圧縮度が高い粉末は流動性が低いとされている¹³⁾。

カサ密度の測定は、まず測定対象の粉を篩から容器に静かに落とし、容器に粉が山盛りになったところで、容器の縁に沿って粉をすり切る(図6左)。この状態で容器ごと粉の質量を量り、測定値から粉の質量を求め容器の容積で割ってゆるみカサ密度を求める。次に容器上部に筒状のキャップを被せて容器が深くなった状態にする。ここにさらに粉を入れ、所定の条件(例:18mmの高さから180回落下させる)でタッピングを行う。こうすると粉が締め固まりカサが小さくなっていく。容器上部に被せたキャップを外すと、粉が溢れて容器に山盛りになるが、再度これをすり切る(図6右)。この状態で測定した粉の密度がかためカサ密度となる。カサ密度にはこれらの他に、ゆるみカサ密度とかためカサ密度の平均値である平均カサ密度(Average bulk density)や、以下の式で計算される動のカサ密度(Working bulk density) ρ_w 等が使われている。

$$\rho_w = (\rho_p - \rho_a) C_p / 100 + \rho_a \quad (2)$$

動のカサ密度は実用的な粉体のカサ密度とされており、凝集度の測定時においても使用される。

試作した米粉のゆるみカサ密度は、ハンマー

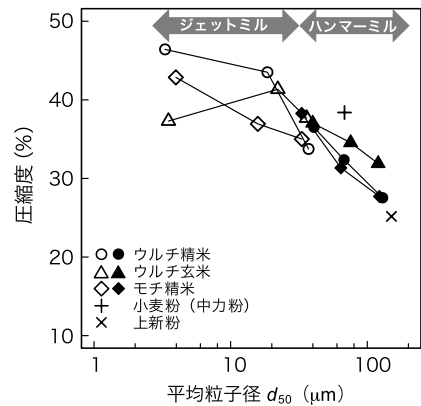


図7 米粉の粉碎方法・粒度と圧縮度の関係

ミルで粉碎されたもっとも粗い粉で精米は約 0.55 g/cm^3 、玄米は 0.44 g/cm^3 であったが、ジェットミルで粉碎されたもっとも細かい粉では 0.20 g/cm^3 まで低下した。これは同じ原料の米粉でも微粉碎をするとカサが2倍以上に増えることを示しており、容器への充填や輸送の際には留意すべき点である。玄米粉ではカサ密度が小さくなる傾向がみられた。また平均粒子径 $40 \mu\text{m}$ 付近の米粉のゆるみカサ密度を比較したところ、粉碎方法によるゆるみカサ密度の違いは見られなかった。

ゆるみカサ密度およびかためカサ密度から計算された米粉の圧縮度を図7に示す。米粉の平均粒子径が小さくなるほど、圧縮度は大きくなる傾向がみられ、やはり細かい粉ほど流動性が低くなっていることを示している。ゆるみカサ密度には粉碎方法による差異は見られなかったが、かためカサ密度については粒子径が同等であればハンマーミルで粉碎された米粉の方が大きくなる傾向がみられたことから、圧縮度についてもハンマーミルで粉碎された米粉が大きくなった。ハンマーミル粉碎の米粉は粒度分布が広がったことから、タッピングにより大きな粒子の隙間に小さな粒子が入り込み、圧縮されやすかったものと考えられる。

2-4. スパチュラ角の測定

スパチュラ角は堆積している粉体の底面に水平にスパチュラ(ヘラ)を差し込み、真上に静



図8 スパチュラ角の測定例

かに引き上げた時にスパチュラに乗った粉の斜面の角度である。流れやすい粉の場合は内部摩擦にに応じたスパチュラ角を形成し、流れにくい粉の場合は非常に不規則な形の粉の塊がスパチュラ上に形成される。非常に流れやすい粉を除けばスパチュラ角は安息角よりも大きくなり、スパチュラ角が大きい粉ほど流動性が低い。安息角が粉の動的な挙動を反映しているのに対して、スパチュラ角は粉の静的な性質を反映しており容器やホッパーに入った粉の挙動を予測するのに役立つ。

スパチュラ角を測定している様子を図8に示す。Carrの説明では堆積している粉にスパチュラを差し込むとされているが、ここではスパチュラ上に粉を堆積させた後、治具を用いてスパチュラを垂直に上昇させている。スパチュラの幅は7/8インチ（約22mm）とされている。スパチュラの長手方向に形成された粉の斜面数か所の角度を測った後、スパチュラに一定の衝撃を与えて粉の山を崩してから再度、斜面の角度を測定する。衝撃を与える前後の斜面の角度を平均したものがスパチュラ角とされる。流動性の高い粉の場合はスパチュラ上の粉は一定角度の斜面を形成するが、流動性の低い粉の場合は斜面の角度は不均一になりやすいので、測定箇所を増やして平均する等の工夫が必要になる。表1に示した換算表を参照するとスパチュラ角は90°以上も定義されているが、実際にデ

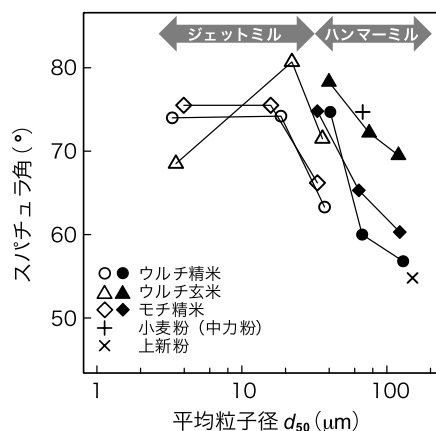


図9 米粉の粉砕方法・粒度とスパチュラ角の関係

ンプンなどの非常に流動性の低い粉ではスパチュラ上にオーバーハングした粉の塊が形成されることも多い。

試作した米粉のスパチュラ角を測定した結果を図9に示す。米粉のスパチュラ角は安息角よりも大きくなったが、これは前述のとおり粉の一般的な性質であると言える。また粉砕方法や粒度とスパチュラ角の関係は、安息角との関係とほぼ同様の傾向を示したが、粉砕方法による違いはスパチュラ角でより大きく現れた。

2-5. 均一度もしくは凝集度の測定

Carrの流動性指数における4つ目の測定項目は均一度もしくは凝集度となっており、どちらかを選んで測定する。均一度と凝集度のどちらを選ぶかということが問題になるが、文献によると極めて細かく凝集力が測定できる粉については凝集度を測定し、顆粒状で表面凝縮力が測定できないものについては均一度を測定すると書かれている¹³⁾。凝集度は目開きの異なる3つの篩を重ね、上から粉を所定の強さと時間で篩った後、それぞれの篩に残った粉の質量から算出する。凝集性の強い粉ほど固まって篩の目を通らず上段の篩に残りやすい。使用する篩の目開きや篩う時間等は前述した動的かさ密度から算出する。この測定ではあくまでも凝集によって篩上に残る粉の質量を測定するので、篩の目よりも大きな粒子が含まれている試

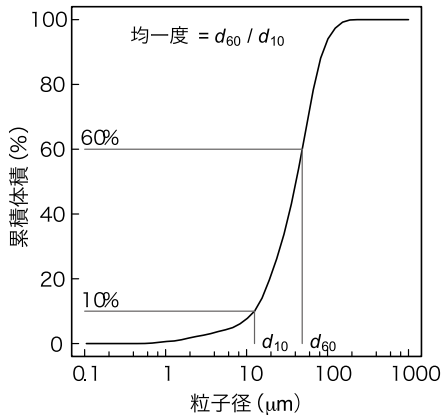


図 10 粉末の累積粒度分布と均一度の定義

料では正確な測定ができない。したがってそういった試料の場合は均一度を測定することになる。均一度は図 10 に示したように、試料の累積粒度分布をとった時に、粒度が小さい方から試料体積の 10% および 60% となる粒子径である 10% 径 d_{10} および 60% 径 d_{60} の比から計算する。均一度を測定するためには粒度分布計か、JIS Z-8801-1 もしくは ISO 3301-1 の規格を満たした篩セットで試料の粒度分布を測定する必要がある。粉の粒子サイズが揃っているほど均一度は 1 に近づき、また流動性が良くなるとされている。

試作した米粉の粒度分布から均一度を計算した結果を図 11 に示す。試作した米粉の多くには、篩の目よりも大きな粒子が含まれていることが粒度分布測定の結果から分かっていたことから、流動性指数の算出には均一度を用いた。今回試作した米粉の均一度は 3 ～ 8 の間となったが、この値は流動性指数の点数に換算すると 23 ～ 20 点であり（表 1）、満点が 100 点であることを考慮するとその差は僅かであったと言える。したがって各試料間の粒度分布の広さの違いが流動性に及ぼした影響はそれほど大きくはなかったものと考えられる。

ところで篩を全通する米粉については凝集度も測定してみたところ、いずれも 80% 以上が凝集し流動性指数の点数に換算すると全て 0 点となった。したがって同じ試料でも均一度を使

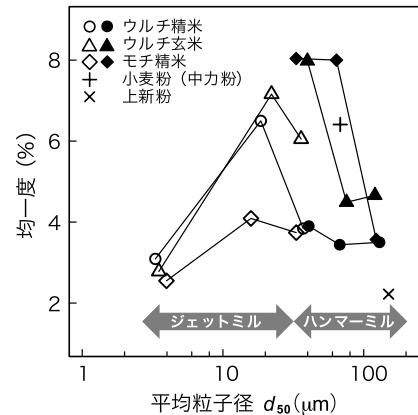


図 11 米粉の粉碎方法・粒度と均一度の関係

用したか凝集度を使用したかで流動性指数が大きく異なってくるのがわかる。粉体の流動性指数を参照する際には、均一度と凝集度のいずれが使用されているか確認した方が良い。

2-6. 流動性指数の計算

Carr の流動性指数を算出するうえで必要となる 4 項目の測定ができれば、表 1 の換算表を用いて点数を計算する。計算の例として上新粉の流動性指数の計算過程を示す。

安息角	42.4°	16 点
圧縮度	25.2%	15 点
スパチュラ角	54.8°	16 点
均一度	2.2	23 点

安息角は 5 回の測定の平均が 42.4° であったので、表 1 の安息角の列を見ると 42 ～ 44° は 16 点となっているので、まず流動性指数として 16 点が付与される。圧縮度については 25.2% となっているが、表 1 の圧縮度の列を見ると 25% が 15 点、26% が 14.5 点となっている。こういった場合の小数点以下の取り扱いについては Carr の文献¹³⁾には明示されていないが、多くの場合は四捨五入されていると考えられる。同様に他の項目も点数化して最後に合計点を求めると 70 点となり、これが今回測定した上新粉の流動性指数ということになる。

試作した米粉の流動性指数を算出した結果を図 12 に示す。全体的にはやはり粒子径が小さ

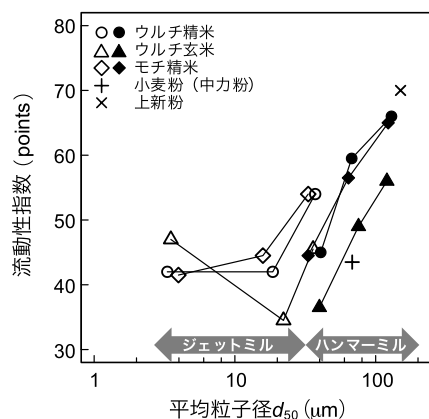


図 12 米粉の粉碎方法・粒度と流動性指数の関係

くなるほど流動性が低下するという、粉体の一般的な性質を米粉も示している傾向が読み取れる。着目すべき点としては、①玄米粉が精米粉よりも全般的に低い流動性を示している点、②平均粒子径 $40\ \mu\text{m}$ 付近の米粉についてはジェットミルで粉碎された米粉がハンマーミルで粉碎された米粉よりも高い流動性を示している点、③平均粒子径が $20\ \mu\text{m}$ から $3\ \mu\text{m}$ にかけては、いずれの米粉も流動性指数が低下せず玄米粉においてはむしろ流動性が向上している点が挙げられる。

- ①に関しては、一般的に油脂分を含んだ粉末は流動性が低下することが指摘されていることから¹⁵⁾、糠に含まれる油分の影響で玄米粉は流動性が低くなったことが考えられる。
- ②に関しては、ジェットミル粉碎米粉とハンマーミル粉碎米粉を細かく比較すると、両者の流動性指数の違いは圧縮度や均一度よりも安息角やスパチュラ角から生じていた。この流動性指数の差は粉碎方法による米粉に加わる熱や力等の違いによって生じている可能性が考えられる。
- ③に関しては、粉体の流動性測定の際には篩を通しながら測定することが多いが、平均粒子径 $3\ \mu\text{m}$ の米粉では篩を通った粉が凝集し、顆粒状になって流動する様子が目視で確認されたことから、見かけ上大きな粒子とし

て流動性が測定された可能性がある。しかしながら平均粒子径 $3\ \mu\text{m}$ の玄米粉では、ゆるみかさ密度は同粒度の精米粉と同程度であったものの、精米粉よりも圧縮を受けにくかった事等、謎も残されている。

また、今回試作した米粉と上新粉および小麦粉の流動性を比較すると、平均粒子径が $40\ \mu\text{m}$ 以下の米粉は上新粉よりも極めて流動性が低く、上新粉を使用してきた製造ラインでこれらの米粉を使用するとトラブルが起きる可能性が高い。一方で小麦粉と比較すると流動性は同程度であり、小麦粉を取り扱える性能を有した装置であれば、これらの米粉を使用しても問題が起きる可能性は低いと言える。

おわりに

粉の流れやすさを評価する方法の一つである Carr の流動性指数について、その測定方法について紹介し、また微粉砕された米粉の流動性指数測定結果について紹介した。米粉の粒子径が小さくなるほど全般的には流動性は低下した点は従来の知見から予測できるものであったが、極めて小さく粉碎された米粉においては予想外の挙動もみられた。

粉体の挙動を評価する方法は今回紹介した Carr の流動性指数以外にも、Carr の噴流性指数¹³⁾ による評価方法、Jenike shear cell と呼ばれる容器を用いた粉の内部摩擦を測定する方法¹⁶⁾、粉体のタッピングによる圧縮を川北の圧縮状態式^{17, 18)} にあてはめて流動性や付着性を評価する方法等が提案されており、これらを用いることにより粉体の性質を様々な側面から評価することができる。今回試作した米粉については Carr の流動性指数の他に、Carr の噴流性指数や川北式による評価を行っており、さらに粉末粒子形状の定量的評価についても行った。今回はこれらの結果の紹介は割愛するが、また機会があれば紹介させていただきたい。

参考文献

1. Fitzpatrick J. J., Iqbal T., Delaney C. *et al.*: Effect of powder properties and storage conditions on the flowability of milk powders with different fat content. *J. Food Eng.*, **64**(4): 435-444, 2004.
2. Teunou E., Fitzpatrick J. J., Synnott E. C.: Characterisation of food powder flowability. *J. Food Eng.*, **39**(1): 31-37, 1999.
3. Fitzpatrick J. J., Barringer S. A., Iqbal T.: Flow property measurement of food powders and sensitivity of Jenike's hopper design methodology to the measured values. *J. Food Eng.*, **61**(3): 399-405, 2004.
4. Fasina O. O.: Flow and physical properties of switchgrass, peanut hull, and poultry litter. *T. ASABE*, **49**(3): 721-728, 2006.
5. Jinapong N., Suphantharika M., Jamnong P.: Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.*, **84**(2): 194-205, 2008.
6. 奥座宏一, 岡部繭子, 島純: 米粉利用の現状と課題—米粉パンについて—. 日本食品科学工学会誌, **55**(10): 444-454, 2008.
7. Kadan, R. S., Bryant R. J., Miller J. A.: Effects of Milling on Functional Properties of Rice Flour. *J. Food. Sci.*, **73**(4): 151-154, 2008.
8. 五月女格, 津田升子, 岡部繭子 他: 粉碎方法および粒子径が米粉の Carr の流動性指数および噴流性指数に与える影響. 日本食品工学会誌 **10**(2): 95-106, 2009.
9. 奥田聡: 改定 粉碎 工場操作シリーズ No. 1. 原徹編, 東京, 株式会社化学工業社, 53-65, 1972.
10. 本間寅二郎, 長谷川政裕, 栗山雅文 他: 単一ノズルを用いた衝突板ジェット粉碎. 山形大学紀要 (工学), **18**(2): 79-88, 1985.
11. 山田昌治: 食品工学ハンドブック 第1版, 日本食品工学会編, 東京, 朝倉書店, 75-78, 2006.
12. Hossen M. S., Sotome I., Nanayama K. *et al.*: Functional Properties of Submicron-Scale Rice Flour Produced by Wet Media Grinding. *Cereal Chem.*, **93**(1): 53-57, 2016.
13. Carr Jr. R. L.: Evaluating flow properties of solids. *Chem. Eng.-New York*, **18**: 163-168, 1965.
14. 羽多野重信, 森英利, 浅井信義: 図解 粉体技術最前線, 東京, 工業調査会, 121-127, 2003.
15. Onwulata C. I., Konstance R. P., Holsinger V. H.: Properties of single- and double- encapsulated butteroil powders. *J. Food Sci.*, **63**(1): 100-103, 1998.
16. Jenike A. W.: Flowability of solids. Storage and flow of solids. Bulletin of the University of Utah. Salt Lake City, University of Utah, 10-26, 1964.
17. 川北公夫: 粉体の圧縮状態式. 材料, **13**(129): 421-428, 1964.
18. 川北公夫: 粉体圧縮に関する基礎的研究. 材料, **18**(189): 460-465, 1969.

トマト・ナスの加熱に伴うグアニル酸生成 — 加熱調理を考慮した品質特性評価 —

安藤 聡 (ANDO Akira)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所野菜病虫害・品質研究領域

Key Words：加熱調理 トマト ナス グアニル酸 グルタミン酸 うま味 GABA 品質

要旨

グアニル酸等の呈味性ヌクレオチドは、グルタミン酸との相乗効果により、少量でうま味を増強する。野菜類には呈味性ヌクレオチドはほとんど含まれないとされてきたが、近年、様々な品目にグアニル酸が含まれることが分かってきた。また、野菜中のグアニル酸は、加熱調理によって増加することが明らかになってきている。トマトやナスは、野菜類の中では比較的高濃度のグアニル酸を含むことから、加熱調理したトマト、ナスのおいしさには、グアニル酸が貢献している可能性がある。トマト、ナスの加熱調理を前提とした品質評価において、グアニル酸含量が重要な指標となるかも知れない。

はじめに

野菜の品質は、色や形状等の外観や、日持ち性や輸送時の傷みにくさといった流通適性などによって評価されることが多い。おいしさに関する評価は、トマトやメロン等の甘味が強い一部の野菜において、甘さの指標として糖度が表示される程度である。著者の所属する研究室では、堀江（現在は茶業研究部門に配属）を中心に、野菜のおいしさを評価することを目的として、キャピラリー電気泳動法を用いた主要な呈味性分の分析法¹⁾や、テクスチャー計測による食感の評価法を精力的に提案してきた²⁾。しかしながら、野菜は生よりも煮る、焼く、蒸す、など加熱調理して食される場合が多いため、調理後の品質を考慮した評価手法の確立が望まれる。生で食した際に高評価を得た野菜が、必ず

しも調理後に高く評価されるとは限らないからである。

近年、堀江は調理後の野菜の品質指標の一つとして、うま味成分グアニル酸（5'-グアニル酸）に着目して研究をおこなってきた。グアニル酸やイノシン酸（5'-イノシン酸）等の呈味性ヌクレオチドは、うま味を呈するアミノ酸であるグルタミン酸との相乗効果により、少量でうま味を増強するが、野菜類にはほとんど含まれないとされ³⁾、その存在は注目されてこなかった。

ところが、様々な野菜類にグアニル酸が含まれ、これが加熱調理によって増加することが、堀江⁴⁾によって報告された。特にトマトやナスにおいては、他の野菜と比べて高濃度のグアニル酸が含まれることも明らかとなった。

シイタケについては、内在性のヌクレアーゼ

連絡先：〒514-2392 三重県津市安濃町草生 360

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

野菜茶業研究所野菜病虫害・品質研究領域

E-mail：aando@affrc.go.jp

による RNA 分解とフォスファターゼによる脱リン酸化が調理過程におけるグアニル酸の増減に関連していることが報告されている^{5,6)}。この知見に基づき、うま味を効率的に引き出すための干しシイタケの調理法等が提案されている^{7,8)}。しかし、野菜については、グアニル酸の生成機構は勿論のこと、調理条件が生成に及ぼす影響等は不明なままであった。最近の堀江ら^{4,9)}と筆者ら¹⁰⁾の報告によって、野菜のグアニル酸に関する知見が蓄積しつつある。本報では、これらの報告を基に、トマトとナスの加熱調理によるグアニル酸生成に焦点を当て、最新の知見を紹介する。また、加熱調理に伴うテクスチャーの変化等を評価する手法についても少々紹介したい。

1. 加熱による主要呈味成分含量の変化

堀江⁴⁾は、ナスの蒸し加熱前後の主要な呈味成分含量を比較し、蒸し加熱前後で含有量に有意差のある成分は、表1に示したようにグアニル酸のみであったと報告している。蒸し加熱によるナスの重量変化は1%前後と小さいため、グアニル酸は蒸し加熱によって約2.6倍に増加したといえる。

続いて、堀江は他の野菜類でもグアニル酸と、グアニル酸との間でうま味の相乗作用を示すグルタミン酸について蒸し加熱前後の含有量を調べている(表2)。

その結果、供試した果菜、根菜、葉菜のいずれにおいても、グルタミン酸はほとんど増減しないか、やや減少する傾向を示していた。一方、

グアニル酸は全ての供試品目において有意に増加していた。このことから、グアニル酸の増加は、野菜を加熱する際には普通に起こる現象であろうと考えられる。

数ある野菜の中でもトマトは、グアニル酸とグルタミン酸の含有量において、最も秀でた野菜の一つと言えるであろう。トマトは、蒸し加熱よりも、焼いて食されることのほうが多い。そこで、筆者は、調理用トマト品種と生食用のトマト品種について、オープン加熱した時の呈未成分変化を調べた(表3)¹⁰⁾。

我が国の調理用トマト品種の代表として、優れた栽培・調理特性を持つ‘にたきこま’^{11,12)}、

表1 ナス果実中の呈味成分についての加熱前後での比較⁴⁾

成分	生	蒸
	g/100 g 試料	g/100 g 試料
果糖	1.20 ± 0.16	1.17 ± 0.16
ブドウ糖	1.16 ± 0.11	1.14 ± 0.04
ショ糖	0.13 ± 0.01	0.17 ± 0.01
リンゴ酸	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.01
	mg/100 g 試料	mg/100 g 試料
アスパラギン酸	16.3 ± 8.0	14.4 ± 5.4
グルタミン酸	21.8 ± 1.6	21.3 ± 2.8
アスパラギン	30.3 ± 9.3	32.0 ± 8.3
グルタミン	119.0 ± 34.7	118.0 ± 31.3
アルギニン	42.5 ± 5.8	46.7 ± 6.6
γ-アミノ酪酸	26.9 ± 2.4	29.0 ± 2.2
グアニル酸	0.65 ± 0.18	1.70 ± 0.06**

平均値±標準偏差, (n=4), 加熱前後の重量変化 0.85 ± 0.79%.

** : 1%の危険率で有意差あり.

供試品種は ‘千両二号’.

表2 生と蒸した野菜のうま味成分比較⁴⁾

	グアニル酸 (mg/100 g 試料)		グルタミン酸 (mg/100 g 試料)		加熱による重量変化 (%)
	生	蒸	生	蒸	
トマト	1.20 ± 0.22	1.50 ± 0.20*	142.5 ± 9.1	149.6 ± 13.9	-8.2
ニンジン	0.08 ± 0.01	0.34 ± 0.03*	17.8 ± 2.5	16.1 ± 1.3	-5.8
ダイコン	0.08 ± 0.02	0.14 ± 0.01*	24.3 ± 2.4	19.6 ± 2.1	-2.1
ネギ	0.09 ± 0.02	0.21 ± 0.05*	39.6 ± 2.3	35.7 ± 2.9*	-6.4
ハウレンソウ	0.43 ± 0.06	0.76 ± 0.19*	67.0 ± 3.6	66.5 ± 1.8	4.3

平均値±標準偏差 (n=4), *: 5%の危険率で有意差あり.

トマト, ニンジン, ダイコン, ネギは「蒸し物(強)」で15分, ハウレンソウは「蒸し物(弱)」で10分加熱.

表3 オープン加熱前後のトマト果実における主要呈味成分含量¹⁰⁾

成分	にたきこま			桃太郎8		
	含有量 (mg/kg FW)		含有量比 ^c	含有量 (mg/kg FW)		含有量比 ^c
	非加熱 ^a	加熱後 ^b		非加熱 ^a	加熱後 ^b	
果糖	14,994 ± 1,151	14,752 ± 972	0.98	19,240 ± 1,465	19,009 ± 865	0.99
ブドウ糖	13,150 ± 1,481	13,179 ± 1,183	1.00	18,213 ± 1,035	18,308 ± 709	1.01
ショ糖	1,073 ± 262	820 ± 231	0.76*	1,549 ± 256	1,438 ± 137	0.93
クエン酸	3,346 ± 464	3,284 ± 441	0.98	3,605 ± 454	3,526 ± 204	0.98
アスパラギン酸	412 ± 73	401 ± 68	0.97	490 ± 62	474 ± 62	0.97
グルタミン	1,135 ± 173	1,051 ± 139	0.93	1,119 ± 290	1,051 ± 222	0.94
グルタミン酸	1,394 ± 235	1,434 ± 226	1.03	2,122 ± 543	2,072 ± 375	0.98
γ-アミノ酪酸	480 ± 123	532 ± 114	1.11*	705 ± 267	695 ± 205	0.99
アデニル酸	164.7 ± 30.7	186.0 ± 29.6	1.13	62.4 ± 12.0	84.2 ± 3.8	1.35**
グアニル酸	15.2 ± 1.7	19.9 ± 1.4	1.31**	6.1 ± 1.0	10.2 ± 0.4	1.67**

^a 生果における新鮮重当たりの含有量 (5果の平均値±標準偏差)。

^b 加熱後の果実における新鮮重 (加熱前の重量) 当たりの含有量 (5果の平均値±標準偏差)。

^c 加熱前後の含有量比 (b/a), ** および * は、各々 1%, 5% 水準で a, b 間に有意差があることを示す。

生食用品種の代表として、優れた食味で知られる‘桃太郎8’¹³⁾を供試した。オープン加熱では、水分の蒸発による濃縮の影響を相殺し、成分含量の比較がしやすいように、非加熱試料およびオープン加熱後の試料共に新鮮重当たりの含有量として表示している。トマト果実に多量に含まれ、トマトの味に大きく関与していると考えられる呈味成分 (遊離糖、有機酸、アミノ酸) と呈味性ヌクレオチドについて比較した (表3) とところ、オープン加熱によって‘にたきこま’のショ糖が有意に減少した他、γ-アミノ酪酸とグアニル酸が有意に増加していた。また、‘桃太郎8’については、アデニル酸とグアニル酸が有意に増加していた。なお、動物性食品に多く含まれることが知られているイノシン酸は、本研究において検出されなかったが、既報¹⁴⁾においても、トマトを始めとする植物性食品からは検出されていない。トマト果実中のショ糖については、細胞破碎によって容易に酵素分解する可能性が示唆されている¹⁵⁾ことから、本研究においては、加熱による細胞の破壊に伴って分解され、減少したものと考えられる。γ-アミノ酪酸とグアニル酸の増加については、堀江^{4,16)}も同様な現象をナスや他の調理用トマト品種において確認している。γ-アミノ酪酸は、血圧上昇抑制作用等の機能性が注目され

ているほか、酸味と塩味の増強効果を有することを示唆する官能評価結果が近年報告されている^{17,18)}。γ-アミノ酪酸は、野菜の中ではトマトやナスに高濃度で含まれる^{16,19)}が、これが加熱調理によって、さらに増量できるとなれば、加熱調理トマトやナスの消費喚起に繋がると期待される。加熱によるアデニル酸の増加は、‘桃太郎8’でのみ有意であったが、‘にたきこま’でも増加傾向が観察された。アデニル酸によるグルタミン酸のうま味相乗効果の度合いは、グアニル酸によるそれと比べて0.078倍^{20,21)}と低い。しかし、両品種においてアデニル酸はグアニル酸の10倍程度含有されることから、アデニル酸によるうま味相乗効果は、グアニル酸のその約0.8倍に相当すると考えることができる。したがって、アデニル酸もトマトの味への寄与は大きいと考えられる。調理用および生食用の2品種の両方で唯一有意に増加していたグアニル酸は、トマト果実に含まれる主要呈味成分の中で最も加熱による増加率が高かった。少量でグルタミン酸とのうま味相乗効果を示すグアニル酸は、加熱したトマトのおいしさにも最も寄与している呈味成分の一つであると考えられる。

次に、筆者は多様なトマト品種におけるグアニル酸含量差を明らかにするため、上述の‘に

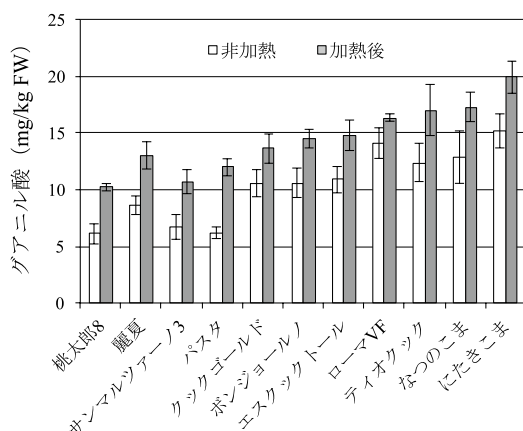


図1 オープン加熱前後におけるグアニル酸含量のトマト品種間差¹⁰⁾

生食用トマト2品種と調理用トマト9品種の果実について、オープン加熱前（非加熱）および加熱後のグアニル酸を定量し、5果の平均値を示した。エラーバーは標準偏差を示す。

たきこま’と‘桃太郎8’に、更に調理用8品種と生食用1品種を加え、オープン加熱前後のグアニル酸を定量した¹⁰⁾。その結果、図1に示したように、全ての品種において、他の野菜（表2）と比べて高い濃度のグアニル酸が含有されていることが分かった。

また、全ての品種において、加熱によりグアニル酸含量が有意に増加していた。生食用の2品種（桃太郎8、麗夏）は、調理用品種と比べて、非加熱試料中のグアニル酸含量が低かったが、非加熱試料中のグアニル酸濃度が低い品種ほど、加熱によるグアニル酸の増加率が高い傾向があった。グアニル酸の増加率は、新鮮重換算で16.0～93.3%であったが、実際の加熱後試料においては、水分蒸発による濃縮の影響により、35.3～138.5%に達していた。なお、果重あるいは果実の水分含量とグアニル酸増加との間に相関関係は見られなかった。

2. 加熱条件がグアニル酸増加に与える影響

2-1. ナス

干しシイタケでは、グアニル酸を増強する

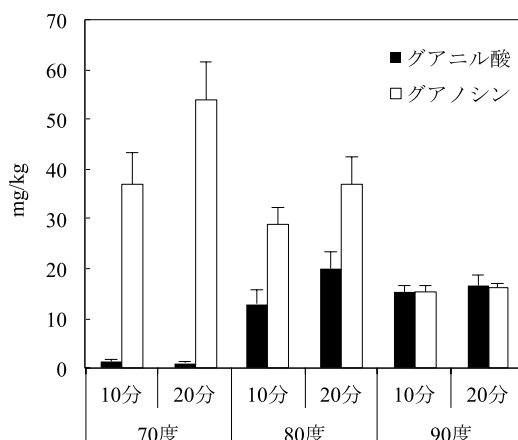


図2 蒸し加熱温度とグアニル酸、グアノシンの蓄積⁹⁾

‘筑陽’を2cmの厚みで切り出し、輪切り片をさらに2分割し、一方を10分間、残りを20分間、所定の温度で加熱したものを分析した。

ための調理方法が提案されている^{7,8)}が、ナスにおいても適切な加熱条件を設定することにより、グアニル酸を増加できると期待される。そこで、我々は加熱温度とナス果実中のグアニル酸含量の関係を調べた⁹⁾。図2に、70℃、80℃あるいは90℃に設定した定温スチーミング電気鍋で果実片を加熱し、10分後および20分後の果実片中のグアニル酸、およびその分解物であるグアノシンの含量を示した。グアニル酸のうま味増強作用は、グアノシンに変換されることにより失われると考えられる。

なお、果実片の温度は、低温スチーミング電気鍋に投入後徐々に上がり、10分後には果実片内部が設定温度に達していた。従って、その後10分間一定温度に置けば、内部温度が一定の条件におけるグアニル酸およびグアノシンの増減を推定できる。図中の20分後と10分後の成分量の差に着目すれば、10分間のグアニル酸の蓄積（20分後と10分後の差）は80℃で最大であった。70℃では、グアノシンの生成量が大きかったが、これは加熱条件下で生成されたグアニル酸が、さらにグアノシンへと分解されたためであろう。一方、90℃ではグアニル酸の

生成・分解に関連する酵素が失活し、10 分後と 20 分後の間の 10 分間には、グアニル酸やグアノシンの生成が進まなかったものと考察される。80℃ではグアニル酸は一部分解されるものの、分解に関わる酵素の活性がある程度抑制された結果として、グアニル酸が蓄積したものと考えられる。このようなことから、果実内部の温度を急激に上げるのではなく、内部が 80℃程度に維持される時間を長くすればグアニル酸が蓄積しやすいものと考えられる。また、加熱時の果実切片の大きさや形状も果実内部の温度上昇速度に影響することから、グアニル酸増加に関して重要な因子の一つと言えるだろう。

2-2. トマト

次に筆者ら¹⁰⁾は、加熱温度と加熱時間がトマトのグアニル酸増加に及ぼす影響を明らかにするため、調理用品種の代表として‘にたきこま’を、生食用品種の代表として‘桃太郎 8’を用いて以下の試験をおこなった。この試験では、試料の均一性を図るため、5 個の果実をまとめて破碎した破碎液を密閉可能なマイクロチューブに分注して加温した。また、室温 25℃から 100℃まで細かく温度条件を振って加熱するため、オーブン加熱ではなく、湯煎による加熱とした。その結果、‘にたきこま’の加熱に伴うグアニル酸増加の推移は、処理温度に応じて著しく異なる傾向が示された（図 3A）。

また、グアニル酸の脱リン酸化分解物であるグアノシンの濃度変化は、グアニル酸とは異なる温度特性を示していた（図 3B）。‘桃太郎 8’においても、‘にたきこま’と同様な傾向が確認されたため、データは省略した。トマト果実破碎液中において、グアニル酸は主に RNA の酵素的分解によって生成され、その後、脱リン酸化を経てグアノシンへと変換されと考えられる⁵⁾。図 3A より、グアニル酸は 0℃（氷中保冷中）においても生成され、50～60℃をピークに 70℃まで生成されると考えられる。80℃以上では各種ヌクレアーゼの活性が失われるこ

とにより、グアニル酸生成がおこなわれないものと思われる。40℃においてのみ加温 10 分以降の生成がほとんど見られない理由は不明であるが、この機序を理解するためには、グアノシンのみならず関連する周辺代謝物の挙動をモニターする必要があるだろう。一方、グアノシンは 60℃をピークとして 50～70℃において加熱時間に伴って増加したが、0～25℃および 80℃以上ではほとんど増加しなかった。これら 2 成分の挙動から、トマト果実破碎液では、50～60℃においてグアニル酸の生成と分解の差が最大となった結果、最大のグアニル酸蓄積が起こったと考えられる。この実験では、破碎後の果実試料を密閉チューブ中で加熱したため、グアニル酸生成に関わる基質 RNA とリボ

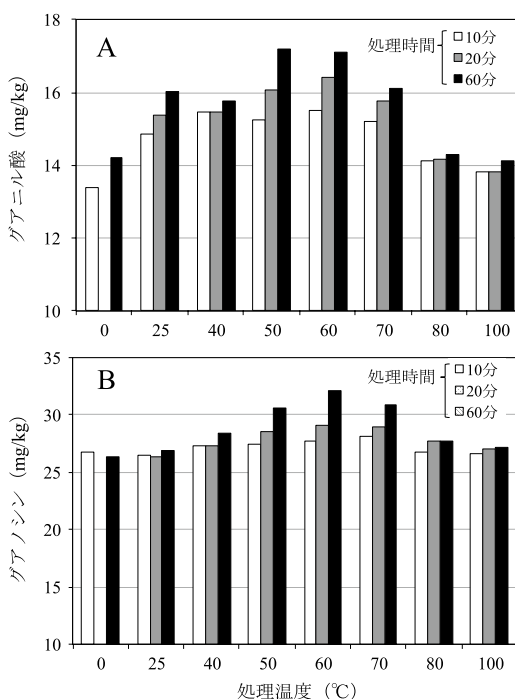


図3 加熱温度・時間によるグアニル酸関連成分の濃度変化¹⁰⁾

調理用トマト‘にたきこま’の果実 5 個を混合し、氷温下でミキサー破碎後、25～100℃で 10、20、60 分間加熱し、グアニル酸 (A) およびグアノシン (B) を定量した。10 分および 60 分間氷中保存した非加熱試料 (処理温度を 0℃と表記) についても分析対象とした。

ヌクレアーゼ等の酵素や温度等の分布が、果実切片を直接加熱するオープン加熱とは大きく異なることが予想される。しかし、本研究で得られた知見は、トマトのみならず野菜類の調理・加工時の温度条件を制御することにより、グアニル酸の含有量を制御できる可能性を示唆するものである。今後、野菜類の調理・加工とおいしさとの関係を考える上で、グアニル酸等の呈味性ヌクレオチドの含有量が重要な指標となるものと考えられる。

2-3. グアニル酸が味に及ぼす影響

堀江⁴⁾によると、グルタミン酸ナトリウム単独の水溶液と、グルタミン酸ナトリウムおよびグアニル酸ナトリウムからなる混合水溶液を比較した場合、以下の関係が成り立つ。

$$Y = (1 + 0.411 [\text{GMP}]) [\text{Glu}]$$

Y：混合溶液と等しいうま味を示すグルタミン酸ナトリウム単独溶液中のグルタミン酸濃度 (mg/l)

[GMP]:混合溶液中のグアニル酸濃度 (mg/L)

[Glu]:混合溶液中のグルタミン酸濃度 (mg/L)
単純な水溶液系であれば、2.5 mg/L のグアニル酸増加によって、2 倍のグルタミン酸ナトリウムを含む水溶液に相当するうま味を呈することになる。このようなグルタミン酸との相乗効果を考慮すると、ナス、トマトの加熱によるグアニル酸増加は、加熱調理後のおいしさに寄与しているものと考えられる。

実際に、300 mg/L のグルタミン酸を添加したニンジンジュースを用いたモデル溶液系では、10 mg/L のグアニル酸添加の有無がトレーニングを受けていないパネルによって官能的に

識別可能であった⁴⁾。上述のように加熱野菜においては、10 mg/kg 程度のグアニル酸増加が実測されているため、加熱調理により増加したグアニル酸が野菜そのものに含まれるグルタミン酸、あるいは調理時に添加される食品中のグルタミン酸との相乗効果により、加熱野菜のうま味の増強に寄与していると考えerことは合理的であろう。

2-4. 加熱調理を考慮した品質特性評価の試み

ここまで、グアニル酸を中心に主要な呈味成分の加熱調理に伴う含量変化に焦点を当ててきたが、加熱調理に伴う品質の変化は、香気成分や食感等、呈味成分以外にもたくさんある。我々は、ナスの調理に伴う物性の変化を評価するために、果実の密度や果皮の硬さ、果肉の硬さ、多汁生（ジューシーさ）および粘度（とろみ）といった特性を評価する手法を提案している⁹⁾。これにより、加熱調理による果皮の軟化や多汁性の増加等を定量的に評価することが可能となり、様々なナス品種間の比較に適用できた。このような知見は、それぞれの品種に適した調理方法の提案等に活用されるものと期待される。一方、果実形態がナスと大きく異なるトマトについては、上述の物性評価手法は、そのまま適用できるものではない。筆者らは、オープン加熱したトマトの型崩れしにくさ等を定量的に評価する手法を検討するなど、トマトの加熱調理を考慮した物性評価の開発にも取り組んでいる。今後更に評価手法の開発を進めて、調理とおいしさの関係を明らかにし、品種特性を生かした調理法の提案等に活用していきたい。

参考文献

- 堀江 秀樹：キャピラリー電気泳動法による野菜の主要呈味成分の分析. 分析化学 **58**(12): 1063-1066, 2009.
- 堀江 秀樹：おいしさの評価と商品開発 生食用野菜の食味食感評価法. 食品工業 **54**(24): 60-65, 2011.
- 藤本 正雄：核酸. 食品大百科事典 ((独) 食品総合研究所). 東京, 朝倉書店, 170-174, 2001.
- 堀江 秀樹：野菜の加熱にともなうグアニル酸の生成. 日本調理学会誌 **45**(5): 346-351, 2012.
- 澤田 崇子, 遠藤 金次：シイタケの加熱調理過程における核酸関連物質の変動. 日本家政学会誌 **41**(5):

- 407-411, 1990.
6. 澤田 崇子：シイタケの核酸関連物質に関する調理科学的研究．日本調理科学会誌 **31**(2): 89-95, 1998.
 7. 澤田 崇子：きのこの調理 —シイタケを中心に—．日本調理科学会誌 **36**(3): 344-350, 2003.
 8. 遠藤 金次：シイタケを煮る．調理科学 **22**(1): 58-62, 1989.
 9. 堀江 秀樹，安藤 聡：調理を考慮したナスの品種特性評価．野菜茶業研究所研究報告 **13**: 9-18, 2014.
 10. 安藤 聡，坂口 林香：トマトの加熱調理によるグアニル酸生成およびその品種間差．日本食品科学工学会誌 **62**(8): 417-421, 2015.
 11. 佐藤 百合香，他：「クッキングトマト」としての利用に向けた加工用トマト品種の加熱調理適性の評価．園芸学研究 **3**(3): 307-312, 2004.
 12. 鈴木 克己，他：生育温度が心止まり性トマト‘にたきこま’の収穫期間に及ぼす影響．野菜茶業研究所研究報告 **10**: 115-122, 2011.
 13. 加屋 隆士：桃太郎トマトの生育特性に関する知見．ハイドロポニックス **27**(1): 4-5, 2013.
 14. Yamaguchi, S., K. Ninomiya: Umami and food palatability. *The Journal of nutrition* **130**(4S Suppl): 921S-6S, 2000.
 15. 安藤 聡，他：日蘭トマト品種の果実成分と収量性．野菜茶業研究所研究報告 **14**: 31-38, 2015.
 16. 堀江 秀樹，安藤 聡，齊藤 猛夫：ナス果実中の γ -アミノ酪酸含量と加熱による増加．日本食品科学工学会誌 **60**(11): 661-664, 2013.
 17. 佐々木 公子，岩城 知津，植野 洋志：GABA (γ -アミノ酪酸)の味覚への関与について．美作大学・美作大学短期大学部紀要 **55**: 65-70, 2010.
 18. 佐々木 公子，渡部 治奈，植野 洋志：GABA (γ -アミノ酪酸)の味覚への関与について — 酸味と塩味への関与—．美作大学・美作大学短期大学部紀要 **56**: 9-14, 2011.
 19. Saito, T., *et al.*: Screening for γ -aminobutyric acid (GABA)-rich tomato varieties. *J Japan Soc Hort Sci* **77**: 242-250, 2008.
 20. 副家 眞也：食品の味．おいしさの科学（山野 善正，山口 静子）．東京，朝倉書店，69-81, 1994.
 21. Yamaguchi, S., *et al.*: Measurement of Relative Taste Intensity of Some L-Alpha-Amino Acids and 5'-Nucleotides. *J Food Sci* **36**(6): 846-849, 1971.

シロザケ種苗を絶食させた時に体型や 体成分に影響を及ぼす要因

大橋 勝彦 (OHASHI Katsuhiko) * 酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi)

*日本ドナルドソントラウト研究所

Key Words : シロザケ種苗 魚油添加飼料 絶食期間 淡水 海水 麻酔耐性 絶食耐性 生残率
体重 肥満度 タンパク質 脂質

著者らはシロザケ用飼料への魚油添加効果を調べる一連の試験¹⁻⁵⁾を行い、以下の点を明らかにした。

- ・淡水で飼育するシロザケの飼料に添加すべきは魚油で、至適添加量は外割で約7% (飼料の脂質含量は約12%) である。但し、餌付時には油無添加飼料を与えるべきである。
- ・魚油添加区の魚は成長が速く、肥満度 (体重×1000/尾叉長³⁾) も大きい。また、魚油添加区は飼料効率 (増重量×100/給餌量) とタンパク質効率 (増重量×100/給与タンパク質量) も高い。
- ・魚油添加区の魚体には脂質が多い。魚体の脂質含量が多い程絶食耐性が強く、絶食からの回復も早い。
- ・魚体の脂質含量が少ない程絶食期間中の死魚数が多く、肥満度の大きい魚も死亡する傾向が有る。
- ・絶食による大量死が起こる時の魚体成分は、脂質が約5% 乾物、タンパク質は約90% 乾物である。その時の水分含量は約85% である。
- ・絶食時にはエネルギー源として脂質が優先して利用される。脂質が限界まで消費されると主としてタンパク質がエネルギー源として消費されるようになり、大量死が起こる。

上記の結果に基づき、本報告ではシロザケ種

苗を絶食させた時に体型や体成分に影響を及ぼす要因を検討することにした。以下に詳細を説明する。

1. 方法

1-1. 試験法

2016年2月10日に給餌開始直前の供試魚3000尾を日本ドナルドソントラウト研究所のシュワンベツ事業所に搬入し、アトキンス式孵化水槽 (2間水槽) 2面に略同数ずつ収容した。2月11日から給餌を開始し、2月23日まで2水槽共同じ飼料を油無添加で与えた。飼料は日本農産工業 (株) 製の北海道さけますふ化場稚魚飼料を用いた。2月23日から一方の水槽には魚油 (植田製油 (株) 製のナイスフィードオイルS) を外割で7% 添加した飼料を与え、もう一方の水槽には油無添加飼料を継続して与えた。両飼料の分析値を表1に示す。油無添加

表1 試験飼料の分析値

油添加 (% 外割)	無添加	7%
全体量	100	107
水分 (%)	8.4	7.9
タンパク質	47.4	44.3
脂質	6.9	13.0
灰分	14.8	13.8
炭水化物	22.5	21.0

注：油7%区は理論値

飼料の値は実際の分析値であるが、添加飼料の値は油が正確に7%添加されていたと仮定して求めた理論値である。これまでの試験でも同じ方法で油添加を行ったが、理論値と実際の分析値に問題になる程の違いが認められた例は無いので、本試験の油添加区の値も結果に影響を及ぼす程の誤差はなかったものと考ええる。なお、炭水化物量は100から他成分量を除いた値とした。毎日の給餌量はライトリッツの給餌率表に従った。4月16日まで給餌を行い、4月17日から両区共無給餌とした。

4月19日に両飼料で飼育した魚を200尾ずつ取上げ、100尾はそのまま淡水で絶食試験を続け、残りの100尾は海面生簀へ運んで海水中での絶食試験を開始した。海へ運ぶ両区の魚100尾ずつはMS-222で麻酔し、体重と尾叉長を測定して肥満度を求めた。麻酔から回復した魚は1/2海水を入れたコンテナに収容し、別海漁協前の堤防内に設置した海面生簀(0.5×0.5×0.5m深)2面までトラックで約1時間かけて運び、直接収容した。淡水での試験魚は魚体測定を行わず、100尾ずつプラスチック製の大型網目カゴに収容し、そのまま流手下で絶食試験を行った。淡水の試験開始時の値は海水移行魚の値を流用した。無給餌3日目に開始した本試験を第1回絶食試験とする。淡水、海水共に4月28日まで試験を継続した。4月28日に全ての魚を取上げて計数後、体重と尾叉長を測定して第1回試験を終了した。試験終了時の魚4区分と試験供試魚とは別に同じ水槽から採取した開始時の魚2区分は魚体の一般成分(水分、タンパク質、脂質、灰分)の分析に供した。飼料、魚体共に水分は常圧加熱乾燥法、タンパク質はケルダール法、脂質はソックスレー抽出法、灰分は直接灰化法で分析した。

4月28日に無給餌13日目の魚を第1回試験と同じ手順で処理し、第2回試験を開始した。絶食期間は第1回試験と同じとし、5月7日に終了した。開始時と終了時には魚体測定と成分

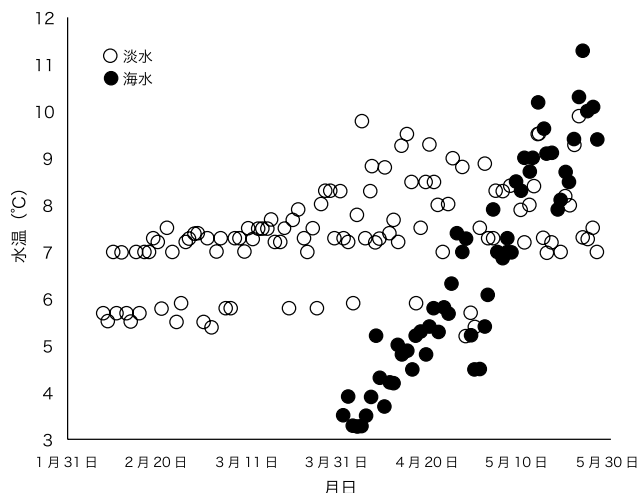


図1 水温の変化

分析を行った。

5月8日に無給餌24日目の魚を同様の手順で処理し、第3回試験を開始した。絶食期間は同じ10日間とし、5月18日に終了した。開始時と終了時には同じ処理を行った。

1-2. 水温

毎日午前10時に測定した淡水と海水の水温を図1に示す。淡水では3月末まで5～6℃の日と7～8℃の日が有り、日によって明確な水温差が認められた。これはその日の天候による融雪状態の違いによるものと思われる。3月下旬からは天候によって9～10℃に近い日もあった。海面生簀で第1回試験を始めた頃の海水水温は5℃前後で淡水より2℃程低かったが、第2回試験開始時の水温はやや淡水より低い傾向が有るものの、淡水に近い水温に達していた。第3回試験時の水温は淡水、海水共殆ど同じであった。

2. 結果

2-1. 麻酔耐性、生残率および魚体測定

第1回試験の結果を表2、第2回試験の結果を表3、第3回試験の結果を表4に示す。第1回試験ではMS-222による麻酔から回復せずに死亡した魚は生じなかったが、第2回試験では油無添加飼料で飼育していた区の魚100尾中7尾が回復せずに死亡した。油添加区の魚は全て

表2 第1回絶食試験の結果

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
尾数				
開始時	100	100	100	100
終了時	98	98	94	100
生残率 (%)	98	98	94	100
体重 (g)				
開始時	1.124	1.226	1.124	1.226
終了時	1.034	1.152	1.046	1.189
増減	-0.090	-0.074	-0.078	-0.037
尾叉長 (cm)				
開始時	5.345	5.502	5.345	5.502
終了時	5.365	5.545	5.312	5.523
増減	0.020	0.043	-0.033	0.021
肥満度				
開始時	7.27	7.26	7.27	7.26
終了時	6.58	6.66	6.89	6.97
増減	-0.69	-0.60	-0.38	-0.29

表3 第2回絶食試験の結果

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
尾数				
開始時	100	100	93(7)*	100
終了時	99	99	92	99
生残率 (%)	99	99	98.9	99
体重 (g)				
開始時	1.094	1.150	1.094	1.150
終了時	1.049	1.088	1.037	1.116
増減	-0.045	-0.062	-0.057	-0.034
尾叉長 (cm)				
開始時	5.424	5.494	5.424	5.494
終了時	5.458	5.529	5.395	5.518
増減	0.034	0.035	-0.029	0.024
肥満度				
開始時	6.77	6.86	6.77	6.86
終了時	6.37	6.36	6.52	6.57
増減	-0.40	-0.50	-0.25	-0.29

* : 100尾中7尾が麻酔から回復せず。93尾のみ海に運ぶ。

表4 第3回絶食試験の結果

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
尾数				
開始時	100	100	97(32)*	100(8)**
終了時	100	100	65	100
生残率 (%)	100	100	67	100
体重 (g)				
開始時	1.019	1.151	1.019	1.151
終了時	0.965	1.003	0.947	1.106
増減	-0.054	-0.148	-0.072	-0.045
尾叉長 (cm)				
開始時	5.379	5.556	5.379	5.556
終了時	5.410	5.452	5.285	5.476
増減	0.031	-0.104	-0.094	-0.080
肥満度				
開始時	6.47	6.66	6.47	6.66
終了時	6.01	6.10	6.32	6.66
増減	-0.46	-0.56	-0.15	0.00

* : 129尾中32尾が麻酔より回復せず。97尾のみ海に運ぶ。

** : 108尾中8尾が麻酔より回復せず。

回復した。第3回試験では無添加区の魚は129尾中32尾が死亡し、添加区の魚は108尾中8尾が死亡した。夫々の試験開始時までの絶食日数と魚の死亡率との関係を図2に示す。絶食期間が長くなるに従って麻酔耐性が弱くなり、回復せずに死亡する魚が多くなる事と、油7%添加区の魚の麻酔耐性が低くなり始めるのは無添

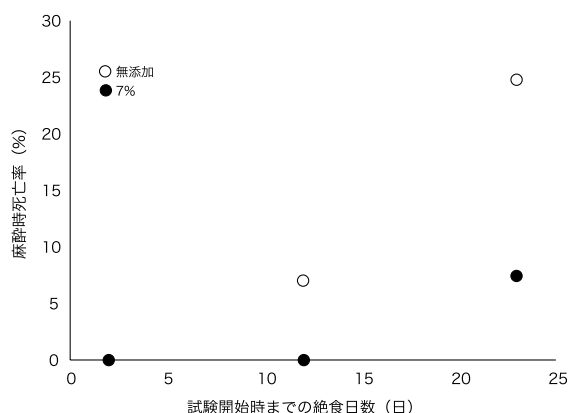


図2 試験開始時までの絶食日数と麻酔耐性

加区より10日程度遅かったことが分かる。この結果だけでは絶食期間が長くなると何故麻酔耐性が低くなるのか、その機構は分からないが、油無添加飼料で飼育した魚は絶食12日位でストレスに対する抵抗力が低くなり始めるが、油7%添加飼料で飼育した魚はそれが十日程遅くなると云える。

第3回試験における無添加区の海水での生残率は67%と他区より著しく低かった。海水移行後比較的短時間で死亡した魚が多かったことと、終了時の体成分がタンパク質80.2%乾物、脂質7.3%乾物、水分80.8%であり、絶食によ

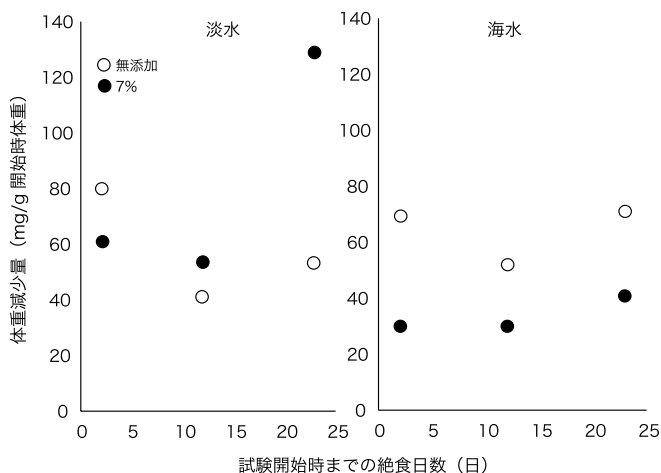


図3 試験開始時までの絶食日数と試験期間中の体重減少量

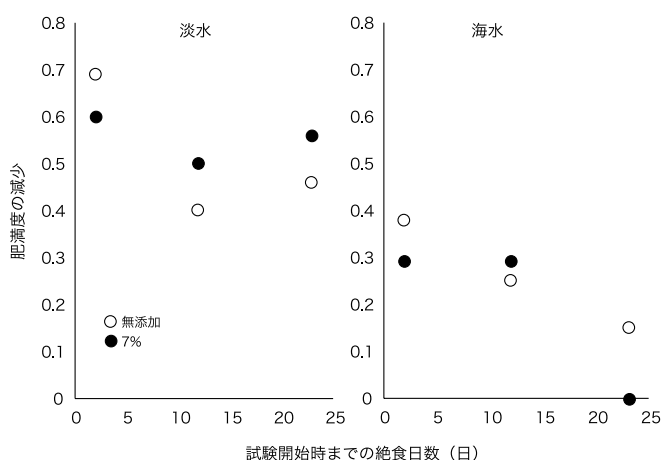


図4 試験開始時までの絶食日数と試験期間中の肥満度減少

る大量死が起こる時の値とは可也の違いが有ったことから、この生残率の低さは海水馴致能の低下によるのではないかと推測する。油無添加飼料で飼育した魚を23日以上絶食させると海水馴致能が低下する可能性が有り、その時の体成分は水分80.7%, タンパク質15.1%, 脂質2.2%位である。絶食による海水馴致能の低下は大量死が起こる可也前から生じている様である。海水馴致能はシロザケ放流種苗の品質を判断する為のひとつの指標になり得るのかも知れない。

試験開始時までの絶食日数と試験期間中の体重減少量を開始時体重1g当りの量で示したのが図3である。第1回試験では油添加の有無に拘らず淡水の方が減少量は大きい傾向

が認められた。これは淡水と海水の水温差が原因の一つになっていた可能性が有る。淡水の第1回試験では無添加区の減少量が大きかったが、第2回試験からは添加区の減少量が大きくなっていった。一方、海水では何れも無添加区の減少量が大きかった。油添加の有無に拘らず淡水でも海水でも絶食初期の体重の減少量が大きかったが、絶食12日になると淡水でも海水でも体重の減少量は小さくなっていった。その後再び減少量は大きくなり、特に淡水の油添加区で顕著であった。無添加区では淡水と海水で減少量の違いは少なかったが、添加区では明らかに海水の方が小さかった。

この結果から、淡水でも海水でも絶食初期の消耗が大きく、その後次第に小さくなり、更に絶食期間が長くなって23日以降になると再び大きくなると推測出来る。また、淡水と海水では絶食期間中の消耗の違いが有るのではないかと思える。但し、これは体重の減少量なので、体成分の変化を考慮しないと正確な判断は下せない。

尾叉長の変化は何れの区でも非常に小さく、油添加の有無に拘らず、淡水でも海水でも絶食期間中に魚は成長しない事が分かる。

肥満度の変化を図4に示す。淡水では無添加区も添加区も絶食初期に減少が大きく、その後次第に小さくなり、更に絶食期間が長くなると再び大きくなっていった。また、絶食初期には無添加区の減少が大きかったが、その後添加区の方が大きくなっていった。これは体重の動きと略一致していた。一方、海水では無添加区も添加区も絶食期間が長くなるに従って次第に減少は小さくなっており、体重の動きとはやや異なった変化を示していた。また、淡水と海水を比較すると、明らかに淡水の減少が大きかった。こ

表5 体成分の変化 (第1回試験)

場所	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
油添加				
開始時				
水分 (%)	79.3	77.7	79.3	77.7
タンパク質	15.3	15.2	15.3	15.2
脂質	3.4	5.2	3.4	5.2
灰分	1.8	1.8	1.8	1.8
終了時				
水分 (%)	79.5	78.4	79.4	77.9
タンパク質	15.9	15.5	16.2	15.8
脂質	2.7	4.4	2.6	4.3
灰分	2.0	2.0	2.3	2.2
増減				
水分 (%)	0.2	0.7	0.1	0.2
タンパク質	0.6	0.3	0.9	0.6
脂質	-0.7	-0.8	-0.8	-0.9
灰分	0.2	0.2	0.5	0.4

表7 体成分の変化 (第3回試験)

場所	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
油添加				
開始時				
水分 (%)	80.7	79.6	80.7	76.6
タンパク質	15.1	15.2	15.1	15.2
脂質	2.2	3.5	2.2	3.5
灰分	2.1	2.1	2.1	2.1
終了時				
水分 (%)	81.9	80.7	80.8	80.5
タンパク質	14.7	14.8	15.4	14.9
脂質	1.5	2.5	1.4	2.4
灰分	2.2	2.3	2.5	2.5
増減				
水分 (%)	1.2	1.1	0.1	0.9
タンパク質	-0.4	-0.4	0.3	-0.3
脂質	-0.7	-1.0	-0.7	-1.1
灰分	0.1	0.2	0.4	0.4

れは淡水では海水より魚の痩せ方著しいことを示している。この違いは単なる水温の違いに起因するものではないと思われる。

絶食時の魚の行動を観察していると、初期には餌を探して活発に泳いでいるが、次第に動きが少なくなり、水槽の底で動かない時間が長くなる。更に絶食期間が長くなると魚は神経質になって異常な行動を示す様になる。魚の行動様式から、絶食期間によって運動に必要なエネルギー量が変化しているのではないかと推測する。この様な魚の行動様式の変化も体重や肥満

表6 体成分の変化 (第2回試験)

場所	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
油添加				
開始時				
水分 (%)	79.5	78.4	79.5	78.4
タンパク質	15.9	15.5	15.9	15.5
脂質	2.7	4.4	2.7	4.4
灰分	2.0	2.0	2.0	2.0
終了時				
水分 (%)	80.7	79.6	80.1	78.8
タンパク質	15.1	15.2	15.8	15.9
脂質	2.2	3.5	2.0	3.4
灰分	2.1	2.1	2.3	2.3
増減				
水分 (%)	1.2	1.2	0.6	0.4
タンパク質	-0.8	-0.3	-0.1	0.4
脂質	-0.5	-0.9	-0.7	-1.0
灰分	0.1	0.1	0.3	0.3

度の変化と関係しているのではないと思われる。また、海水では天然餌料の影響も有ったであろう。

2-2. 体成分量の変化

試験回次毎の魚 100g 当りの体成分量を表5～7に示す。淡水での水分増加は第1回試験では油添加区が大きかったが、第2回、第3回試験では殆ど差が無かった。一方、海水では第3回のみ添加区の増加が大きくなっていた。淡水と海水を比較すると、何れの試験でも淡水での増加が大きかった。

タンパク質は第1回試験では油添加の有無に拘らず増加していたが、第2回以降は減少していた。第1回の増加は淡水、海水共に無添加区が大きく、海水での違いがより大きかった。第2回以降の減少は淡水でより大きかったが、淡水、海水共に油添加の有無による明確な違いは認められなかった。

脂質は第1回試験から全て減少しており、減少は何れの試験においても海水の方が大きく、淡水でも海水でも添加区の減少が大きかった。無添加区では淡水でも海水でも絶食期間によって減少が大きく変化する傾向は認められなかったが、添加区では淡水、海水共に減少は次第に大きくなっていた。

灰分は全ての試験において増加しており、明

表 8 魚 1 尾当り体成分変化量 (第 1 回試験)

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
開始時体重 (g)	1.124	1.226	1.124	1.226
尾 /100g	89.0	81.6	89.0	81.6
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	891	952	891	952
タンパク質	172	186	172	186
脂質	38	64	38	64
灰分	20	22	20	22
終了時体重 (g)	1.034	1.152	1.046	1.189
尾 /100g	96.7	86.8	95.6	84.1
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	822	903	831	926
タンパク質	164	179	169	188
脂質	28	51	27	51
灰分	21	23	24	26
減少量				
水分 (mg/ 尾)	69	49	60	26
タンパク質	8	7	3	2 増
脂質	10	13	11	13
灰分	1 増	1 増	4 増	4 増

表 10 魚 1 尾当り体成分変化量 (第 3 回試験)

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
開始時体重 (g)	1.019	1.151	1.019	1.151
尾 /100g	98.1	86.9	98.1	86.9
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	823	916	823	916
タンパク質	154	175	154	175
脂質	22	40	22	40
灰分	21	24	21	24
終了時体重 (g)	0.965	1.003	0.947	1.106
尾 /100g	103.6	99.7	105.6	90.4
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	791	809	765	890
タンパク質	142	148	146	165
脂質	14	25	13	27
灰分	21	23	24	28
減少量				
水分 (mg/ 尾)	32	107	58	26
タンパク質	12	27	8	10
脂質	8	15	9	13
灰分	0	1	3 増	4 増

らかに淡水より海水での増加が大きかった。油添加の有無に拘らず絶食期間と灰分の増加割合との間に相関は認められず、略一定の割合で増加していた。

表 9 魚 1 尾当り体成分変化量 (第 2 回試験)

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
開始時体重 (g)	1.094	1.150	1.094	1.150
尾 /100g	91.4	87.0	91.4	87.0
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	870	901	870	901
タンパク質	174	178	174	178
脂質	30	51	30	51
灰分	22	23	22	23
終了時体重 (g)	1.049	1.088	1.037	1.116
尾 /100g	95.3	91.9	96.4	89.6
体成分量				
水分 (mg/ 尾)	847	866	831	879
タンパク質	158	165	164	177
脂質	23	38	21	38
灰分	22	23	24	26
減少量				
水分 (mg/ 尾)	23	35	39	22
タンパク質	16	13	10	1
脂質	7	13	9	13
灰分	0	0	2 増	3 増

2-3. 魚 1 尾当りの体成分量変化

前項の体成分量は分析値そのままで、魚体 100g 当りの各成分量を示すものであり、魚 1 尾当りの成分量を示す数字ではない。絶食による体成分量の変化は魚 1 尾当りの体成分量に換算しないと分からない。そこで各回試験の開始時と終了時の平均体重から分析サンプル 100g に魚が何匹存在していたかを計算し、開始時と終了時の魚 1 尾当りの各成分量を求めたのが表 8 ～ 10 である。

絶食期間中の水分減少量は淡水の第 1 回試験では無添加区の方が大きかったが、第 2 回以降は添加区の方が大きく、特に第 3 回試験では顕著な違いが認められた。海水では全試験を通じて無添加区の減少が大きかった。淡水と海水の比較ではバラツキが大きく、一定の傾向は認められなかった。

タンパク質は全期間を通じて淡水の減少量が大きく、第 1 回と第 2 回試験では油無添加区の減少がやや大きかったが、第 3 回試験では逆に添加区の減少が大きくなっていた。海水では第 1 回、第 2 回試験では無添加区の減少が明らかに大きく、第 3 回試験ではやや添加区の減少が

表 11 開始時体重 1g 当り成分減少量

場所 油添加	淡水		海水	
	無添加	7%	無添加	7%
第 1 回試験				
水分 (mg)	61	40	53	21
タンパク質	7.1	5.7	2.7	1.6 増
脂質	8.9	11	9.8	11
灰分	0.9 増	0.8 増	3.6 増	3.3 増
第 2 回試験				
水分 (mg)	21	30	36	19
タンパク質	15	11	9.1	0.9
脂質	6.4	11	8.2	11
灰分	0	0	1.8 増	2.6 増
第 3 回試験				
水分 (mg)	29	93	57	23
タンパク質	11	23	7.9	8.7
脂質	7.2	13	8.8	11
灰分	0	0.9	2.9 増	3.5 増

大きいのか、略同じ程度になっていた。

脂質の減少量は全期間を通じて淡水と海水で差が無く、淡水、海水共に何れの試験においても添加区の減少量が大きかった。また、絶食期間とは関係無く無添加、添加の何れの区においても略同じ減少量を示していた。

灰分は淡水では絶食期間中全く減少は認められず、同じ値を維持するか、或いは多少増加する程度の変化であったが、海水では全ての期間で明らかに増加していた。増加量に絶食期間との関係は認められず、略同じ量ずつ増加していた。

この結果は、淡水では絶食によって骨は消費も形成もされないのので灰分含量は殆ど変化しないが、海水では絶食中にも骨の石灰化が進行している可能性が有ることを示している。海水からの無機塩の供給が石灰化を進めているのかも知れない。但し、海水中で絶食させていた魚は魚体測定後淡水で洗浄してから分析サンプルとしたのではない。サンプル採取時に魚の体表に付着していた海水はペーパータオルで拭き取ったものの、鰓や口腔内に付着していた海水はその

ままであった。よって、この灰分の増加が骨の石灰化によっていたのか、或いは魚体に付着していた海水によっていたのか判断出来ない。この点については今後キチンとした調査が必要である。

2-4. 体重 1g 当りの体成分減少量

前項で絶食時に魚 1 尾当りの各成分量がどの様に減少或いは増加するのかは分かった。ところが各回試験の開始時平均体重は油無添加区と添加区で可也違っていた。絶食による体成分の変化量をより正確に知るには、開始時の単位体重当りの変化量で示す必要が有ると考えた。表 8～10 に有る成分減少量を各試験開始時の体重で除し、開始時体重 1g 当りの減少量に換算したのが表 11 である。

図 5 に各試験開始時までの絶食日数と開始時体重 1g 当りの水分減少量との関係を示す。淡水での減少量は第 1 回試験では無添加区の方が大きかったが、第 2 回以降は添加区の方が大きく、特に第 3 回試験では顕著な違いが認められた。海水では全期間を通じて無添加区の減少が大きかった。淡水と海水を比較すると、無添加区の第 1 回試験では殆ど差が無かったが、第 2 回以降は海水の減少が大きい傾向が認められた。一方、添加区は全期間を通じて淡水の減少が大きかった。図 5 の変化パターンは絶食日数と体重減少量の関係で見られた変化パターン

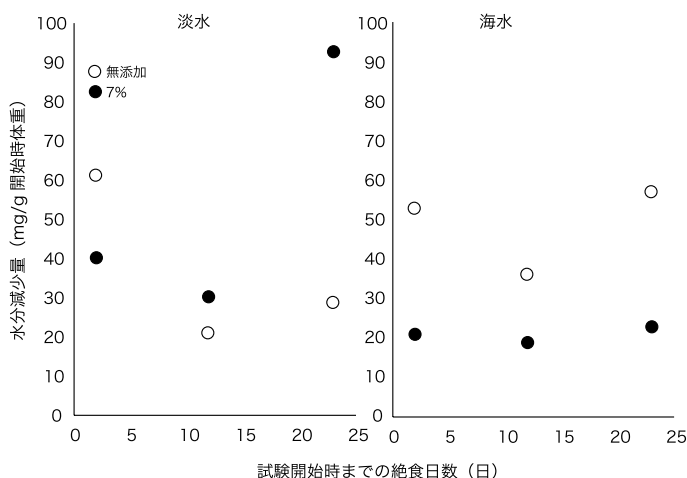


図 5 試験開始時までの絶食日数と試験期間中の水分減少量

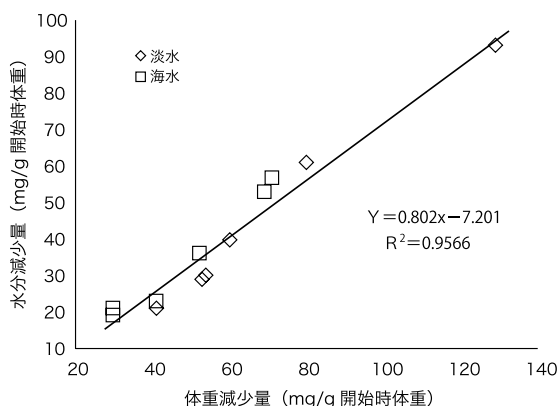


図6 体重減少量と水分減少量の関係

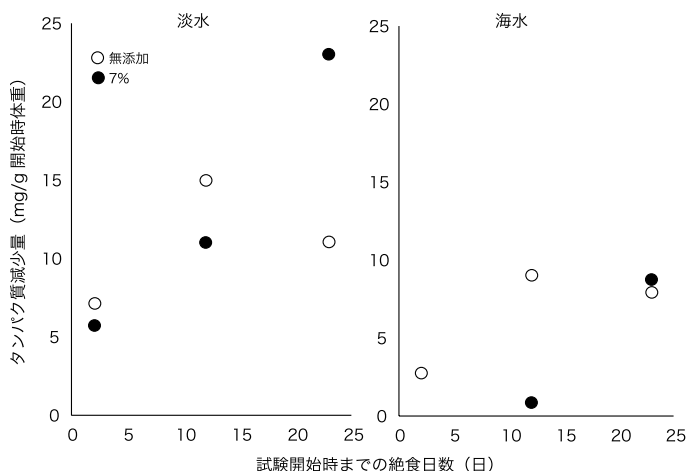


図7 試験開始時までの絶食日数と試験期間中のタンパク質減少量

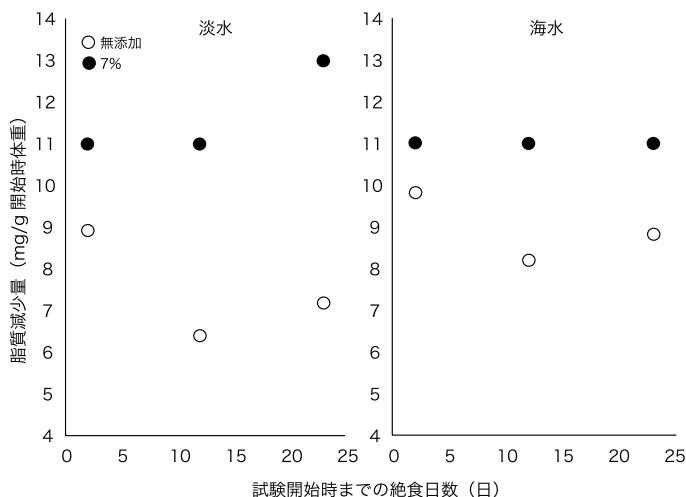


図8 試験開始時までの絶食日数と試験期間中の脂質減少量

と全く同じであった。よって、絶食開始時体重1g当りの体重減少量と水分の減少量の関係を調べたのが図6である。多少のパラッキは有るものの、両者の間には非常に強い正の相関が認められ、飼料への油添加の有無に関係無く、絶食時の体重減少量は大部分が水分の減少によっていたのが分かる。

図7に試験開始時までの絶食日数と開始時体重1g当りのタンパク質減少量の関係を示す。油添加の有無に関係無く全期間を通じて淡水の方がタンパク質の減少量が大きかった。淡水、海水共に第2回試験までは無添加区の減少が大きかったが、その後無添加区の減少は小さくなり、添加区の減少が大きくなっていた。特に淡水での違いが顕著であった。タンパク質の減少量が魚の消耗程度を表すと仮定すると、油添加の有無に拘らず淡水での消耗が早く起こること、海水での消耗は淡水より十日程遅れること、淡水でも海水でも無添加区の消耗が早く起こること、添加区の消耗は無添加区より10日程遅れること等が分かる。

図8に試験開始時までの絶食日数と開始時体重1g当りの脂質減少量の関係を示す。淡水でも海水でも全期間を通じて添加区の減少が無添加区より著しく大きかった。また、淡水の方が無添加区と添加区の違いが大きく、絶食期間が長くなるに従って違いが大きくなる傾向が認められた。無添加区の減少は全期間を通じて海水の方が大きかったが、添加区では淡水の第3回試験の減少が大きかった以外、淡水と海水で殆ど違いが無かった。無添加区の変化は淡水でも海水でも体重及び水分の減少の動きと略一致しており、タンパク質の動きとは逆であった。添加区では体重と水分の動きに類似していた

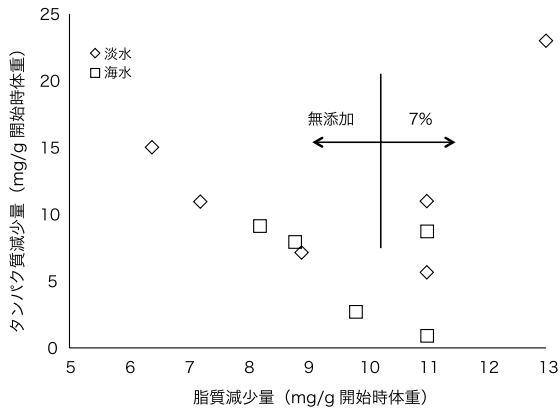


図9 脂質減少量とタンパク質減少量の関係

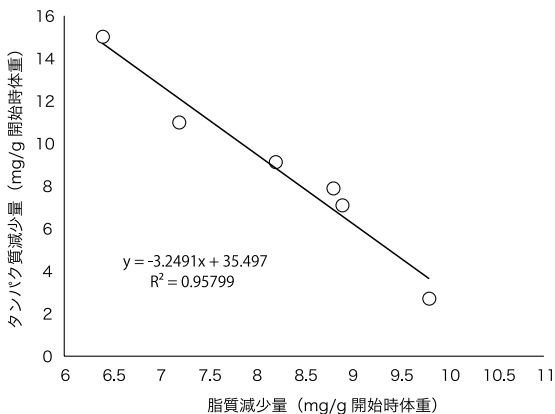


図10 油無添加区の脂質減少量とタンパク質減少量の関係

が、タンパク質の動きとの関係は無添加区ほど明確ではなかった。

図9に絶食開始時体重1g当りの脂質減少量とタンパク質減少量の関係を淡水と海水に分けて示してある。脂質の減少量が10mg以下の点は全て無添加区で、11mg以上の点は全て添加区であった。無添加区では淡水、海水に拘らず両者の間には強い負の相関が認められた(図10)。即ち、脂質の減少量が大きい程タンパク質の減少量が小さかったことを示している。一方、添加区の脂質の減少量は淡水の第3回試験のみが大きかったが、他は全て同じ値を示していた。この淡水第3回試験の油添加区はタンパク質の減少量も他より著しく大きかった。その他の脂質の減少量は11mgで同じであったが、タンパク質の減少量には違いが有り、淡水での

減少が海水より大きい傾向が認められた。

3. まとめと考察

油添加効果

第1回試験開始時の平均体重と平均尾叉長を油無添加区と添加区で比較すると、明らかに添加区の方が大きく、添加区の魚の成長が良かったことが分かる。絶食試験開始時までの正確な増重量を測定していないので、飼料効率とタンパク質効率を数字で示すことは出来ないが、両区共魚を略同数ずつ収容し、同じ量の飼料を与えていたことから、油添加区の方が飼料効率もタンパク質効率も高かったのは明らかである。飼料への油添加が魚の成長を促進し、飼料効率とタンパク質効率を改善するとの結果は、従来の試験結果と良く一致していた。また、肥満度は第1回試験開始時には両区で差は無かったが、それ以降油添加区の方が大きく、油添加区の魚の方が体重の減少が少なく、痩せ難い事を示していた。これも従来の試験結果と同じであった。

麻酔耐性

飼料への油添加の有無に拘らず絶食期間が長くなるとMS-222による麻酔から回復せずに死亡する魚が増えていた。夫々の試験回次毎の死亡魚の魚体測定を行ったところ、第2回試験の無添加区では体重0.937g、尾叉長4.856cm、肥満度8.15であり、第3回試験の無添加区では体重1.053g、尾叉長5.412cm、肥満度6.57、添加区では体重1.161g、尾叉長5.537cm、肥満度6.78であった。この数字と表3、4に有る開始時の値を比較すると、グループ内の小型で痩せた魚が死亡しているのではなく、どちらかと言うとグループ内では大きくて痩せの程度が少ない魚が死亡していたと云える。絶食が原因で死亡する魚はグループ内では小型で、痩せて肥満度も小さい魚である事がこれまでにを行った試験で証明されている。絶食の長期化に伴う麻酔耐性の低下は、単純な体の衰弱が原因では無い様である。とは言え、油添加区の麻酔耐性が低下する時期が遅かったことから、魚体の衰弱も関係していたのは間違いないものと考ええる。魚体

の衰弱程度や酸素不足に対する耐性、体成分との関係等色々な事が考えられるので、絶食と麻酔耐性の関係については更に検討を加える必要が有る。

体重の減少

油無添加区では絶食初期以外海水の方がやや体重の減少が大きい傾向が認められたが、淡水との違いは小さかった。絶食初期の違いは淡水と海水の水温差が影響していたのかも知れない。添加区では明らかに淡水の減少が大きく、特に絶食が長期に及ぶと違いが著しくなっていた。

海水での試験は海に設置した生簀で行ったので、試験中に発生していたシロザケ種苗が摂取可能な大きさの天然プランクトンの種類や量の影響を受けていた可能性が有る。淡水での試験も水源が摩周湖の湧水によって形成された池の流下水なので、水棲昆虫や落下昆虫の影響が無いとは云えないが、海より天然の餌が少なかったのは確かである。海水での油添加区の体重減少量が淡水より少なかったのは、天然プランクトンの影響ではないかと思われるが、無添加区で海水の方が体重の減少量がやや大きい傾向が認められた理由は良く分からない。もしかすると麻酔耐性や海水馴致能が関係していたのかも知れない。

尾叉長と肥満度

飼料への油添加の有無、淡水であるか海水であるかに拘らず、絶食期間中に尾叉長は殆ど変化しておらず、シロザケ稚魚は絶食中に体長が伸びない、言い替えると成長しないことが分かる。絶食期間中の肥満度の変化は体重の変化によると云える。海水より淡水で肥満度の減少が大きいのは、淡水で魚の痩せ方が大きかった事を示している。また、淡水においても海水においても無添加区の減少がやや大きい傾向が認められるのは、無添加区の魚の痩せ方がやや大きいことを表している。

海水での絶食でも肥満度は減少したが、減少の程度は淡水より小さかった。これは試験期間中にこの海域に発生していた天然プランクトンは魚を成長させるほどではなかったが、体重の

減少を小さくする程度の効果が有ったのかも知れない。絶食期間が長くなるに従って海水での肥満度の減少が小さくなっていたのは、水温が高くなる事によって天然プランクトンの種類と量に変化していた可能性が考えられる。この点については、天然プランクトンの種類と量の経時変化も調べてあるので、その結果が出てから改めて解析する予定である。

体成分

絶食日数と魚体の水分減少量との関係は体重減少量と全く同じ変化を示していた。そこで絶食開始時体重 1g に対する絶食による体重減少量と水分減少量の関係を調べると、両者の間には $Y=0.802X-7.201$, $R^2=0.9566$ の非常に強い正の相関が認められた。飼料への油添加の有無、淡水であるか海水であるかに拘らず、絶食による体重の減少量は魚体の水分量の減少と関連しており、体重減少の 80% は水分の減少によっている事が分かった。

絶食期間中のタンパク質減少量は油添加の有無に拘らず、明らかに淡水の方が大きかった。これは海水では天然プランクトンの影響も有ったのではないかと推測している。また、第2回試験までは無添加区の減少が大きく、それ以降添加区の減少が大きくなり、特に淡水での減少が顕著であった。

油無添加区の脂質の減少量は明らかに海水の方が大きかった。海水では天然餌料の供給が有っても淡水より脂質の減少量が大きかったことから、海水では淡水よりも脂質の消費が大きくなっていることが考えられる。そうであれば絶食中のタンパク質の減少量が海水より淡水で大きかった理由が理解出来る。油添加区では淡水の第3回試験以外殆ど同じ減少量を示していた。また、全期間を通じて淡水でも海水でも添加区の減少が大きかった。これは油添加飼料で飼育された魚は無添加飼料で飼育された魚より脂質の利用能が高くなっていた可能性を示している。飼料への油添加によって脂質をエネルギー源として優先的に利用するパターンへと魚の代謝が変化し、タンパク質の消費を抑制して

いたのかも知れない。魚体にとって最も重要な成分はタンパク質であって、その消費を出来るだけ抑制するのに脂質が役立っているのではないかと推測出来る。

脂質とタンパク質の減少量

図 10 に示す油無添加区における脂質とタンパク質の減少量の関係から、絶食時に脂質が 1mg 消費されるとタンパク質の消費量は 3.2491mg 少なくなっていた事が分かる。絶食時にはエネルギー源として脂質をより多く消費する方が魚体の衰弱を軽く出来、それによって体重や肥満度の減少を少なくし、死魚数も少なくなり、大量死が起こるのも遅くなるのであろう。これが飼料への油添加によって魚の絶食耐性を強く出来る主な理由ではないかと考える。油添加区では淡水でも海水でも脂質の減少量が多かった為か、タンパク質の減少量との間に明確な相関は認められなかった。無添加区で上記の相関が認められたのは、天然餌料の供給が有っても無くても、淡水であっても海水であっても、脂質が 1mg 消費されればタンパク質の消費量は 3.2491mg 少なくなる事を示している。今後、脂質の利用能が向上していると思われる油添加区で、脂質の消費量とタンパク質の消費量の関係を明らかにしておく必要が有る。

以上の結果から、シロザケ種苗を絶食させた場合の体型や体成分に影響を及ぼす要因として、飼料への油添加の有無、水温、絶食期間、魚の行動特性、淡水或いは海水、天然餌料の種類と量等色々と考えられるが、最も大きな影響を及ぼすのは飼料への油添加によって生じる魚の代謝様式の変化と絶食期間ではないかと考える。これらの影響で変化した魚体の成分によって絶食耐性が決められていると云える。

飼料へ油を添加することによって魚体の脂質含量が増えると共に脂質の利用能が向上し、絶食中のエネルギー源として脂質を利用する割合が大きくなる。脂質を利用する割合が増えればタンパク質の消費量は減少し、魚体の衰弱程度は軽くなる。これによって油添加飼料で飼育した魚の絶食耐性は強くなる。また、海水中では淡水中より脂質の利用能が向上する傾向が認められた。これが淡水中で絶食中に体重やタンパク質の減少が大きい理由であろう。この様に考えれば、飼料への油添加の有無や絶食が淡水中であるか海水中であるかによって生ずる体型や体成分の変化等色々な現象を無理なく説明出来るのではないだろうか。

本試験によってシロザケ用飼料に油を添加する必要性が改めて確認出来た。淡水飼育時の飼料への至適油添加量は外割で 7% (飼料の脂質含量で約 12%) であることを確認しているが、本試験において海水中では淡水中よりも脂質の消費量が多いのではないかと思える結果が得られたので、今後海中飼育用飼料の至適脂質含量を求めておく必要が有る。

また、天然餌料の供給が無い海水中で本試験と同じ試験を行い、絶食中に減少する魚体の脂質量とタンパク質量の関係を調べ、淡水中と海水中で脂質によるタンパク質の消費抑制効果に違いが有るか否かを明らかにする事も必要であろう。

謝辞

本試験で海面飼育時の給餌、水温測定、サンプリングおよび魚体測定で宮川一男氏と大橋寿教氏、魚体測定結果の取り纏めで阿部信行氏に御協力頂いた。記して感謝の意を表します。

参考文献

1. 酒本秀一，大橋勝彦：シロザケ飼料の魚油添加効果 -1. *New Food Industry*, **54** (3), 49-58, 2012.
2. 酒本秀一，大橋勝彦：シロザケ飼料の魚油添加効果 -2. *New Food Industry*, **54** (4), 28-38, 2012.
3. 酒本秀一，大橋勝彦：シロザケ飼料の魚油添加効果 -3. *New Food Industry*, **54** (5), 41-49, 2012.
4. 大橋勝彦，酒本秀一：シロザケ飼料の油脂源. *New Food Industry*, **55** (1), 53-68, 2013.
5. 大橋勝彦，酒本秀一：シロザケ飼料の魚油添加効果 -4. *New Food Industry*, **56** (1), 71-85, 2014.

驚くべきヒット食品

— 『キシリトールガム』 株式会社ロッテ —

田形 暁作 (TAGATA Yoshinari)

TAGATA 食品企画・開発代表

Key Words: 特定保健用食品 歯の健康 商品開発 技術開発 品揃え戦略 ブランド化 マーケティング戦略

本稿は、11月号に掲載されたものでありますが、本文中に校正不備や加筆があったため今月号に再掲載することとなりました。

はじめに

株式会社ロッテは昭和23年に会社を創業し、今年で68年目である。社名は、ドイツの文豪ゲーテの名作「若きウェルテルの悩み」のヒロイン「シャルロッテ」にちなんで名づけ、誰からも愛される会社になれるようにという願いが込められている。現在では、「お口の恋人ロッテ」として親しまれ、チューインガムをはじめ、チョコレート、ビスケット、アイスクリームなど総合菓子メーカーへと成長している。また、事業の多角化と国際化にも取り組み、国内ではロッテリア、千葉ロッテマリーンズなど多様な産業分野への多角化を進める一方、東南アジアを中心に事業の国際化を進めている。また、韓国ロッテでは食品事業をはじめ幅広い分野に着実な成長を続けている。

現在、国内、海外を含めグローバルな企業グループへと邁進している。本稿では、1997年5月に発売し、2002年に特定保健用食品として認可された『キシリトールガム』のブランドマネージャーを取材したので紹介する。

1. 株式会社ロッテの会社概況

・社名	株式会社ロッテ
・資本金	2億1,700万円
・創業日	昭和23年6月
・代表者名	代表取締役社長 佃 孝之
・売上高 2014年度	日本ロッテグループ 食品事業（国内菓子・アイス・飲食など）2923億円 全ロッテグループ 連結決算売上 6兆4,737億円
・従業員数	約4540名（日本ロッテグループ合算） ※2015年3月現在
・本社所在地	〒160-0023 東京都新宿区西新宿 3-20-1
・事業内容	菓子、アイスクリームなどの製造、ゴルフ場経営、ホテル経営
・主要製品	ガム・チョコレート・キャンディ・ビスケット・アイスクリーム

2. 株式会社ロッテの企業理念

3つのテーマを核に常に新しい挑戦を続ける

1. User Oriented

～消費者の立場になって考えること～

2. Originality

～独創的なアイデアを探し続けること～

3. Quality

～すべてにわたって最上の品質を究めること～

3. キシリトールについて

3-1. キシリトールとは

シラカバやカシ等が原料の甘味料である。身近なところではイチゴやラズベリーなどの果物

やレタス、ほうれん草、カリフラワーなどの野菜に含まれている。分子式は $C_5H_{12}O_5$ の単糖である。冷涼感があり、後味の切れが早く、爽やかな甘みである。また、カロリーは砂糖の約75%である。1997年4月に食品添加物として厚生省（当時）に認可された。

3-2. キシリトールについて

砂糖の場合、糖をミュータンス菌が分解し、発酵させて酸をつくりだす。その酸によって歯のエナメル質が溶かされてむし歯ができてしまう。一方、キシリトールの場合は、ミュータンス菌によって代謝されず、むし歯のもととなる酸が産生しない。

4. 特定保健用食品『キシリトールガム』について

4-1. 『キシリトールガム』誕生の狙いと開発経緯

虫歯になったことのない5歳児は日本では23%、フィンランドでは70%（厚生省「93年歯科疾患実態調査」）。

この調査以前からフィンランドでのキシリトールの取組に関心を持っていたロッテはフィンランドの子供の口腔環境の状況をヒントに『キシリトールガム』の商品企画・開発に着手した。1997年4月に甘味料としてキシリトールが認可されたことを受けて1997年5月に『キシリトールガム』を発売した。

4-2. 特定保健用食品キシリトールガムの機能について

私たちが食事を摂ると、食事由来の糖質を菌が代謝することで酸が作られ、その酸により歯の表面部分のエナメル質からカルシウムやリンが溶け出してしまう。これを脱灰という。私たちの口の中にある唾液には、その酸を中和したり、唾液中のミネラルをエナメル質表面に戻す働きがある。これを歯の再石灰化と言う。この脱灰と再石灰化は歯の表面で絶えず行われており、平衡状態を保っている。しかし、このバラ

ンスが崩れ、脱灰が進行すると、むし歯になってしまう。ロッテが開発したキシリトールガムには、キシリトール・フクロノリ抽出物・リン酸一水素カルシウムが配合されている。歯の再石灰化を増強することが確認されており、歯を丈夫で健康に保つガムとして消費者庁より特定保健用食品の認可を受けている。

5. 『キシリトールガム』ブランドの商品開発 5P とターゲット & TPO について

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

5P はまず第一に『Product』ありきである。『Product』には商品コンセプト、商品形状、ネーミングなどがある。

第二は『Package』である。包装仕様、デザインなどがある。

第三は『Price』であり、商品を発売するとき非常に重要である。

第四は『Place』である。スーパーで販売するのか、コンビニエンスストアなのか、デパートなのか、専門店なのか、ドラッグストアなのか、それとも通販なのか。色々なチャネルがあるので、選択と集中が必要になる。

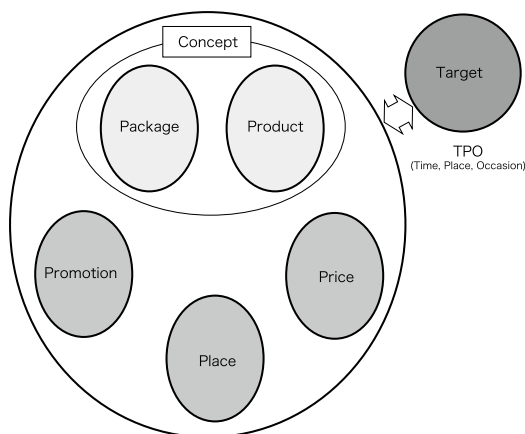


図1 商品開発 5P

開発品はユーザーの手元に届く仕組みになっているか

第五は『Promotion』である。店頭プロモーション、媒体プロモーションなど効果的に使うことが重要である。

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

『キシリトールガム』の『Target』&TPO と 5P について順次取材していった。まず、初めに発売当時の『キシリトールガム』の商品写真を示す。



左:キシリトールガム(粒) ライムミント
右:キシリトールガム(板) クールハーブ

まず、『Target』は、口腔内の健康意識の高い人で、30代から50代の男女である。T(Time), P (Place), O (Occasion) は三食の後や間食後を考えている。

包装仕様は持ち歩きに便利なパッケージなのでいつでもどこでも噛むことができる。

『Product』はスティックタイプ左:キシリトールガム(粒) ライムミントには、ミュータンス菌に代謝されないマルチトールを配合した。

『Package』現在はスティックタイプとボトルタイプがある。ライムミントのデザインは木と北欧の自然なイメージを意識して緑をベースの色とした。また、ロゴマークは「XYLITOL」を白抜きにし、登場感と力強さを出すためにパッケージ全体をメタリック調にした。

『Price』は当時のガムは100円が主流であったが、ガムの価値をワンランク上げた高付加価値商品として120円(税抜き)で発売。現在も

キシリトール特保取得試験について

【試験内容】

口の中に、ヒトの歯を薄くしたディスクを埋め込んだ入れ歯のようなものを装着して、生活。1日2粒を5分間、1日7回摂取。

ガム摂取期間終了後にどのくらい再石灰化したか評価。

※ガム摂取期間は1週間。



【試験結果】

キシリトール、フクロノリ抽出物、リン酸一水素カルシウムを配合したガム(キシリトールガム)では、コントロールガムを摂取した場合に比べて、再石灰化が促進されていた。

同じ価格である。『Place』は、スーパー、コンビニエンスストア、ドラッグストアが中心である。

『Promotion』はフィンランドのトゥルク大学カウコ・マキネン教授を広告に採用しフィンランドではキシリトールガムを食後にかむ習慣があることを紹介した。この狙いは、生活へのキシリトールの取り入れ方を紹介し、フィンランドではキシリトールは一般的であることを伝えるためである。2001年に板タイプのキシリトールガム<クールハーブ>で特保を取得、2002年には粒タイプの<ライムミント><フレッシュミント>のスティックタイプとボトルタイプも特保を取得した。特保を取得したのは、CMでは、日常的にキシリトールガムをかみ、歯を丈夫で健康に保つ機能の伝達を目的とした。特保のヘルスクレームは「むし歯の原因にならない」「歯の再石灰化を増強し、歯を丈夫で健康に保つ」である。2001年に特保を取得した板タイプ、2002年に特保を取得したスティックタイプの商品写真を示す。



左:キシリトールガム(粒) ライムミント
右:キシリトールガム(板) クールハーブ

6. 戦略的品揃え

6-1. 全世代に合わせた商品の品揃え

①奥歯で噛めるようになる2歳ころからのお子様をターゲットにした



キシリトール
タブレット
(1)



ポケモンキシリ
トールガムファ
ミリーボトル
(2)

『キシリトール
タブレット』キシ
リトール 100% 配
合(甘味料として)
の清涼菓子。

②お子様向けの
キャラクターを
使った『キシリト
ールガム』。

③主に若い女性をターゲットにした『フルーツ
系のキシリトールガム』。(2016年9月時点)



左:キシリトールガム<グレープ>
中:キシリトールガム<ピーチ>
右:キシリトールガム<グレープフルーツ>

④清涼感やミント感を求める主に30代から50
代をターゲットにした『キシリトールガム』。



左:キシリトールガム<ライムミント>
右:キシリトールガム<ライムミント>ファミリーボトル

⑤シニア層や、ガムが歯につく等でガムを食べ
なくなった方をターゲットにした「歯につきに
くいキシリトールガム」。



左:歯につきにくいキシリトールガム
<クリアハーブミント>
右:歯につきにくいキシリトールガム
<クリアハーブミント>ファミリーボトル

⑥『キシリトールホワイト』

「いつも輝く笑顔に」をブランドメッセージと
した、主に若い女性をターゲットにした商品。
メタリン酸ナトリウム配合。



左:キシリトールホワイト<シャインミント>
右:キシリトールホワイト<チャームミント>

※「①②③⑤⑥は、特定保健用食品ではありません」

6-2. 機能性を特化した商品の品揃え

①『キシリトールガム』

「むし菌のない社会へ」をブランドメッセー
ジとしている。キシリトール・フノラン・リン
酸一水素カルシウムを配合し、特定保健用食品
の認可を受けた商品である。

②『キシリトール オーラテクトガム』は歯ぐ
きを健康に保つ。ユーカリ抽出物配合で、歯垢
の生成を抑え、歯ぐきを健康に保つ。ターゲッ
トは40代以上。



右:キシリトール
オーラテクトガム<クリアミント>
左:キシリトール
オーラテクトガム<クリアミント>
ファミリーボトル

6-3. 歯科医向け商品の品揃え

キシリトール 100% (甘味料として) を使用
した歯科医向けの『キシリトールガム』。

『Place』は主に歯医者で売られている。



左：歯科専用キシリトールガム＜クリアミント＞
ラミチャック
中：歯科専用キシリトールガム＜クリアミント＞ボトル
右：歯科専用キシリトールオーラテクトガム
＜ハーブミント＞ ボトル

7. キシリトールガムの啓発活動

啓発活動は時間と人手はかかるが重要と考え、できる範囲の活動をしている。具体的には①母子手帳と一緒に歯の健康ブックを配布している。この活動は全国的に実施している。

②フィンランドと同じように小学校の給食の後に『キシリトールガム』を噛んでもらう。

③子どもを対象にした、手作りガム教室を実施し、キシリトールの良さを伝えている。

おわりに

キシリトールに関する取り組みが盛んなフィンランドでは、子供のころからキシリトールガムを噛む習慣があると聞く。一方、啓発活動は即効性のある効果はでにくく手間がかかるが、商品理解を深めるには重要であると考え。

今後啓蒙活動などを通し、よりお客様に密着した存在となるよう『キシリトールガム』の活躍に期待だ。

参考資料

1. 田形院作：ガム市場を創造した驚くべきヒット食品『グリーンガム』&『クールミントガム』株式会社ロッテ，*New Food Industry*, **54** (11), 67-75, 2012.
2. 田形院作：アイスクリームの常識を変えた驚くべきヒット食品『雪見だいふく』株式会社ロッテ，*New Food Industry*, **58** (7), 75-80, 2016.

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

メディケアフーズ展 2017 ～高齢者食と介護食の専門展示会 & セミナー

次回で第9回目となるメディケアフーズ展は、「高齢者に食べる喜びと笑顔を」テーマに、業務用・市販用の食品から、高齢者食・介護食を開発するために必要な素材や技術などを一堂に集め、過去最大規模で開催する。

会 場：東京ビッグサイト西3・4ホール

会 期：2017年1月25日(水)・26日(木) 10:00 - 17:00

主 催：UBM メディア(株)

公式ホームページにおいて、入場料3,000円が無料になる来場事前登録を開始。

公式ホームページ

<http://www.medicarefoods.com/index.php>

国内最大級の健康産業ビジネストレードショー「健康博覧会 2017」 開催概要

◆健康博覧会 2017 来場者事前登録開始のお知らせ

「来場者事前登録」により入場料5,000円が「無料」。また、優先的にセミナー聴講予約が可能に
※セミナー聴講予約は2017年1月より受付開始予定。

「健康博覧会 2017」来場者事前登録の公式サイトは

https://ubmmmedia.com/this/inquiry/visitor_regtop.php

会 期：2017年2月15日(水)～17日(金)

会 場：東京ビッグサイト西1・2ホール&アトリウム

出展規模：600社 800小間

New Food Industry のアドバイザリーボードについて

月刊 New Food Industry は、「アドバイザリーボード」を設置しております。本「アドバイザリーボード」は、弊誌の学術業界誌としてふさわしい論文・解説記事の掲載等、社外の有識者の意見を得ることを目的として設置しているものです。今後の編集課題を踏まえた、研究者のご紹介など有意義なご指導・ご助言をいただき、編集委員会として貢献していただいているものです。

■ボードメンバー（敬称略 / 五十音順）	
氏 名	所 属
大石 隆介 氏	（明海大学 経済学部経済学科）
大谷 元 氏	（信州大学名誉教授）
岡 希太郎 氏	（東京薬科大学名誉教授）
坂上 宏 氏	（明海大学大学院教授）
宮尾 茂雄 氏	（東京家政大学教授）
山口 正義 氏	（エモリー大学 医学部）

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

ニューフードインダストリー 第58巻 第12号

印 刷 平成 28 年 11 月 25 日
発 行 平成 28 年 12 月 1 日
発行人 平井 朋美
編集人 今西 和政
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）
T E L : 03-3254-9191（代表）
F A X : 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

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）

e-mail: newfood@newfoodindustry.com