

食品加工および資材の新知識

New Food Industry

New food indust. 60 (11): 2018.

11

■ 霊芝菌糸体培養培地抽出物の血糖上昇抑制作用と抗酸化作用

■ Extracts of Edible Mushroomsによる
免疫賦活および放射線防護効果に関する研究

■ 漢方の効能 (2) 薬膳とは

■ 酒たちの来た道 酒造りの文明史^⑫

■ ベジタリアンの健康・栄養学

■ 連載 漢方の効能 (2) 薬膳とは



その透きとおった肌のヒミツは、なに？

保湿
美白
バリア機能改善

外部試験機関にて臨床データを取得
ヒト経口摂取による試験にて、「保湿効果」、「バリア機能改善効果」
さらには「美白効果」も確認されました。

初めまして。
食べて身体の中からキレイになる、
パイナップルから生まれたセラミド。

美容素材 **パイナップルセラミド**

パインセラ

自然の恵みを運ぶ 食品営業部
丸善製薬株式会社
【東京】東京食品課 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2-6-7 TEL (03)3496-1521 FAX (03)3496-1641
【大阪】大阪食品課 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道徳町2-6-6(塩野日生ビル6F) TEL (06)6203-6918 FAX (06)6233-3606 <http://www.maruzenpcy.co.jp>

New Food Industry 食品学術誌のご案内

◆この雑誌についてのお問合せ◆
TEL :042-312-0836

エヌエフアイ合同会社 検索

New Food Industry とは

月刊「New Food Industry」誌は、1959（昭和 34）年に創刊以来、食品業界の発展を目指す斯界の研究者ならびに教育機関の先生方などのご助言、ご協力をいただきながら60年の歴史を歩んで参りました。これまで途絶えることなく60年間に亘り発行を続けられたことは、我が国の食品業界における学術誌としては稀有の存在であり、今日の食品業界の発展に少なからず寄与しているものと自負しております。

年間購読料

雑誌コード：89591

前払い：1冊 2,160円（税込）×12ヵ月 10%割引 23,328円

送料【100円】×12ヵ月 1,200円 合計：24,528円

後払い：定価

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

総 説

- 霊芝菌糸体培養培地抽出物の血糖上昇抑制作用と抗酸化作用
Inhibitory effects on postprandial blood glucose elevation and antioxidant properties of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia
..... 神内 伸也, 岡崎 真理, 飯塚 博, 日比野 康英 1

- Extracts of Edible Mushrooms による
免疫賦活および放射線防護効果に関する研究
Immunoenhancement and radioprotection effect by Extracts of Edible Mushrooms
..... 具 然和 13

解 説

- ニジマス用飼料の炭水化物源-2
..... 酒本 秀一 30

- グルテンフリー-穀物 食品と飲料, グルテンの検知-2
..... 瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 42

連載 漢方の効能

- (2) 薬膳とは
..... 白瀧 義明 57

酒たちの来た道

- 酒造りの文明史⑫

..... 古賀 邦正 59

ベジタリアンの健康・栄養学

- 第3章 アドベンチストの長寿（他の人との比較）

..... ゲーリー E. フレーザー，訳：山路 明俊 72

連載

- 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

キササゲ *Catalpa ovata* G. Don（ノウゼンカズラ科 Bignoniaceae）

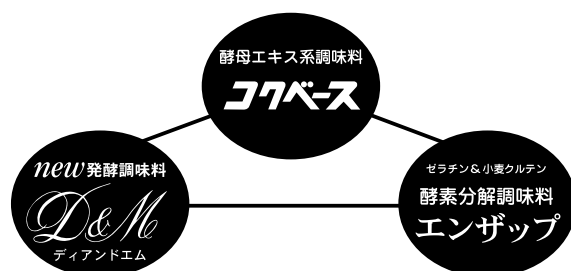
..... 白瀧 義明 80

- デンマーク通信 デンマークのキャンディ

..... Naoko Ryde Nishioka 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

すべては母乳から始まった・・・
“乳”を知りたい人に必読の書。

母乳の力

母乳タンパク質に秘められた生体防御機能

私たち成人は、主食や副食により、栄養機能、感覚機能、生体調節機能を充たしています。しかし、哺乳動物の新生児は、母乳だけでこれらの機能を充たします。このことは、母乳には、生命活動に必要なすべての栄養素、嗜好性成分および生体調節成分が含まれることを意味しています。(中略)“母乳”は、“人乳”だけを意味するものではありません。哺乳動物の母親の分泌する乳すべてを意味しています。本書が、畜産物利用学、食品機能学、栄養学、食品タンパク質科学、食品免疫科学などに関心をお持ちの学生、教育者、技術者および研究者の皆様のお役にたてば、著者の存外の喜びです。(本書まえがきより)

母乳の力

母乳タンパク質に秘められた生体防御機能

大谷 元



食品資料研究会

内容紹介

第1章 母乳の基礎知識

母乳で学ぶ食品の機能／母乳タンパク質の一般的性質

第2章 生体防御機能の基礎知識

哺乳動物の生体防御機能としての免疫／生体防御機能の探索法

第3章 母乳タンパク質の生体防御機能

母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの生体防御機能／牛乳IgGの獲得液性免疫抑制機能／パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳IgGのI型アレルギー軽減作用／ウシ後期初乳の生体防御機能

第4章 牛乳タンパク質の生体防御機能に着目した食・飼料の開発の実際

カゼインホスホペプチドの粘膜IgA産生促進機能とそれに着目した飼料／牛乳IgGの感染予防機能とそれに着目した食品の開発

第5章 牛乳アレルギーとその治療乳・予防乳

牛乳アレルギー／牛乳タンパク質の抗原構造／牛乳タンパク質を原料に用いた牛乳アレルギーの治療乳・予防乳の開発の実際

ISBN978-4-87991-003-5 C1077

発売日：2011年9月20日

定 価：(本体2,800円＋税)

判 型：A5版

頁 数：184頁

著者プロフィール

著者／大谷 元 (おおたに はじめ)

農学博士。信州大学大学院農学研究科

＜受賞＞

1981年 日本畜産学会研究奨励賞(牛乳β-ラクトグロブリンの抗原性に関する研究)

1987年 日本畜産学会賞(牛乳蛋白質の抗原性に関する研究)

2005年 日本酪農科学会賞(ミルクたんぱく質およびその部分ペプチドの免疫調節機能に関する研究)

2008年 日本農学賞(牛乳たんぱく質の免疫調節機能の探索と利用技術の開発)

2008年 読売農学賞

2009年 Animal Science Journal Excellent Paper Award

2010年 紫綬褒章

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

霊芝菌糸体培養培地抽出物の 血糖上昇抑制作用と抗酸化作用

Inhibitory effects on postprandial blood glucose elevation and antioxidant properties of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia

神内 伸也 (KAMIUCHI Shinya)¹ 岡崎 真理 (OKAZAKI Mari)¹
飯塚 博 (IIZUKA Hiroshi)² 日比野 康英 (HIBINO Yasuhide)^{1,*}

¹ 城西大学大学院 薬学研究科, ² 野田食菌工業株式会社

Key Words: 霊芝、霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK)、糖質分解酵素、2 型糖尿病、KK-A^y マウス、 α -グルコシダーゼ阻害剤、食品医薬品相互作用、1 型糖尿病、ストレプトゾトシン

要旨

霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) は、霊芝菌糸体をバガスと脱脂した米糠の混合固形培地に接種し、一定期間培養後、子実体発生直前に培地と共に熱水抽出・噴霧乾燥したもので、健康食品として長年の食経験がある。我々は、民間療法による MAK の使用例の中で、血糖値の改善効果が得られる可能性が示唆されたことから、科学的なデータを取得することを目的に研究を行ってきた。

MAK は、マルトースの経口糖負荷試験において、正常血糖マウスの血糖上昇を顕著に抑制した。この作用は、MAK の α -グルコシダーゼ阻害作用によるもので、腸管での糖質分解酵素活性を阻害して糖質の吸収を遅延させたためと考えられる。また、MAK は、2 型糖尿病モデルマウスに対しても同様な食後過血糖改善効果を示すが、 α -グルコシダーゼ阻害剤のボグリボースと同時に服用すると、血糖上昇抑制効果がほぼ完全に消失する。この現象は、MAK と一部の食後過血糖改善薬との間で相互作用が生じたためであり、その使用には注意が必要であることを示唆している。さらに、1 型糖尿病モデルマウスに MAK を長期投与すると、血糖値に加えて血中酸化ストレス度が有意に低下する。加えて、腎臓および肝臓の過酸化脂質量および抗酸化酵素活性が、正常血糖マウスのそれらとほぼ同レベルに維持され、その結果として組織学的障害が軽減されと考えられる。

以上の結果から、MAK は食後の過血糖を抑制する効果に加えて長期的な投与による血糖上昇抑制作用によって、食直後の過血糖および持続的な高血糖状態に起因する酸化ストレスを低下させることから、臓器障害を予防・改善する機能性食品として有用であると考えられる。

* 連絡先：〒350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

城西大学大学院薬学研究科 医薬栄養学専攻

Tel : 049-271-7285 Fax : 049-271-7284

E-mail : seitaib@josai.ac.jp

Inhibitory effects on postprandial blood glucose elevation and antioxidant properties of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia

Shinya Kamiuchi¹, Mari Okazaki², Hiroshi Iizuka², Yasuhide Hibino^{2, *}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University

² Noda Shokukinkogyo Co. Ltd.,

[Key words: *Ganoderma lucidum*; water-soluble extract of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK); saccharidase; type 2 diabetes; KK-A^y mouse; α -glucosidase inhibitor; food-drug interaction; type 1 diabetes; streptozotocin]

Abstract

A water-soluble extract (MAK) was prepared from the culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia, which were inoculated into a mixed solid medium composed of bagasse and degreased rice bran. The mycelia were cultured for a certain period of time and extracted with hot water, and immediately spray-dried before appearance of fruit body. MAK has been consumed as a healthy food from many years. Because we suggested the use of MAK as a folk remedy for elevated blood glucose level, we aimed to acquire scientific data regarding the efficacy of MAK in reducing blood levels.

In the oral maltose tolerance test, oral administration of MAK, which did not affect fasting blood glucose level, significantly suppressed the increase in blood glucose level after the loading of maltose. This suppression is surmised to have occurred due to the α -glucosidase inhibitory action of MAK, which may be based on the inhibition of saccharide hydrolyzing enzymes in the intestinal tract that is responsible for reducing carbohydrate absorption. Additionally, MAK showed the same efficacy for improving postprandial hyperglycemia in mice with type 2 diabetes. However, the glucose-lowering effect of voglibose was not observed in maltose-loaded mice with type 2 diabetes when it was concomitantly administered with MAK. This phenomenon possibly occurred due to the interaction between MAK and some drugs which ameliorate postprandial hyperglycemia indicating that caution is required for its use. Long term oral administration of MAK reduced the levels of blood glucose and oxidative stress in mice with type 1 diabetes. Notably, MAK prevented an increase in lipid peroxide levels and reduction in the activity of antioxidant enzymes in the liver and kidney. These data suggest that MAK alleviates the histological disorder.

To summarize, our data suggest that MAK reduces the oxidative stress caused by postprandial hyperglycemia and alleviates persistent hyperglycemia through the suppression of blood glucose elevation after long term administration. Thus, MAK is useful as a functional food for the prevention as well as improvement of organ disorder.

*To whom correspondence should be addressed.

Department of Clinical Dietetics and Human Nutrition,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University,
1-1 Keyakidai Sakado, Saitama 350-0295, Japan
TEL : +81-49-271-7285 FAX : +81-49-271-7284 E-mail : seitaib@josai.ac.jp

はじめに

霊芝はサルノコシカケ科に属するマンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) の別名であり、古くから滋養強壮・長寿の伝承薬として使用されてきた。マンネンタケあるいはその成分は非常に広範な生理学的活性を示し、免疫調節作用^{1, 2)}や抗悪性腫瘍作用^{3, 4)}、抗ウイルス作用⁵⁾、コレステロール低下作用⁶⁾、抗酸化作用⁷⁾などが実験的に証明されている。また、血糖降下作用についてもいくつかの報告がある⁸⁻¹¹⁾。しかし、これまでの研究では、マンネンタケの子実体を材料としており、これに対して MAK はマンネンタケ菌糸体をバガスと脱脂した米糠の混合固形培地に接種し、3.5 ヶ月間培養後、子実体発生直前に培地と共に熱水抽出・噴霧乾燥したものである。MAK は、マンネンタケの菌糸体成分を由来として、水溶性リグニンをはじめとした菌糸細胞による固形培地の分解物や菌糸体の自己消化成分等を含有していることから、これらの多様な成分が MAK の生物学的活性を修飾していると考えられる。

近年、我が国における糖尿病患者は急激に増加し、医療費を増大させていることから、食品・食品成分による糖尿病の予防、改善が注目されている。例えば、茶として飲用されるグアバ¹²⁾、マテ¹³⁾などの葉の抽出物が糖類分解酵素を阻害し、糖質の消化吸收を遅延させることが明らかにされている。これまでに報告された MAK の薬理学的効果には、免疫賦活作用¹⁴⁾、抗腫瘍作用^{15, 16)}、抗うつ様作用¹⁷⁾、血圧上昇抑制作用¹⁸⁾、虚血性脳障害軽減作用^{19, 20)}などが動物実験によって確認されているが、これらに加えて我々は MAK の糖の消化・吸収や糖代謝への影響に関する知見を複数の論文で報告してきた。当初は、民間療法における MAK の使用例から、糖尿病の患者に対する高血糖の改善効果がみられるとの報告があるものの、科学的なデータにもとづいた証明はなされていなかった。第1節では MAK の血糖上昇抑制効果について *in vitro* 試験と正常血糖マウスを用いた *in vivo* 試験の結果について概説する。

我が国をはじめとした先進国において深刻な問題となっている2型糖尿病は、インスリン分泌異常とインスリン感受性の低下を示し、発症には遺伝的要因とともに生活習慣が深く関わっている。2型糖尿病の初期には、空腹時血糖値が正常もしくは軽度の上昇にとどまる一方で、食後の過血糖が生じることが知られている。この食後過血糖の改善を目的に、現在アカルボースやボグリボース等の α -グルコシダーゼ阻害剤が広く用いられている。この薬物は、食物中の糖質を分解する際に利用される α -グルコシダーゼの作用を抑制する働きがあり、食前に服用すると消化管での糖質の分解・吸収を遅延し、食後の血糖値の急激な上昇を抑制する。第2節では、軽度糖尿病患者による MAK の利用を想定し、2型糖尿病モデル動物である KK-A^y マウスを用いて血糖上昇抑制作用を調査するとともに、軽度糖尿病患者に対して処方頻度の高い食後過血糖改善薬との同時服用による相互作用の有無を見極めるため、 α -グルコシダーゼ阻害薬であるボグリボースまたはアカルボースと MAK の併用効果について *in vitro* および *in vivo* の両実験系を用いた内容を概説する。

糖尿病は、生体にとって最も重要なエネルギー源であるグルコースの代謝異常を生じる疾患であり、病態の進行に伴い網膜症や腎症などの合併症を誘発し、続いて動脈硬化病変の促進による冠動脈疾患、脳梗塞、末梢血管の狭窄などのリスクを増大させる。これらの糖尿病合併症の発症と進行には、糖尿病の持続的高血糖状態による体内酸化ストレスの増大が深く関与している²¹⁾。例えば、酸化ストレスの原因物質であるスーパーオキシドアニオンラジカル ($\cdot\text{O}_2^-$)、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) などの活性酸素種 (ROS) は、DNA の損傷や脂質の過酸化、タンパク質の変性などを誘導し、生体にとって有害な反応を引き起こす。特に、高血糖状態では、終末糖化産物 (AGEs) の生成過程で血管内皮細胞において ROS が発生し、血管障害が生じることが報告されている。また、ROS によってもたらさ

れる種々の毒性に対して、生体内ではスーパーオキシドジスムターゼ (SOD), カタラーゼ (CAT), グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) といった抗酸化酵素などの内因性の ROS 除去機構が機能しているが、糖尿病状態では、組織中の抗酸化酵素活性が低下し、また、ビタミン C, ビタミン E やグルタチオンなどの抗酸化物質も減少するために ROS 等の毒性の軽減を難しくしている。ROS は、糖尿病のみならず多くの疾患に関与することから、これらの疾病予防やその改善効果を目的とした酸化ストレスの軽減が重要視されている。近年、多くの基礎研究^{22, 23)} や疫学研究²⁴⁾ から抗酸化食品等の摂取による ROS 除去が酸化ストレスの軽減に有効であるとの知見が得られており、抗酸化ビタミンやポリフェノール等の抗酸化物質、またはこれらを含む抗酸化食品の摂取による糖尿病の改善や二次的障害の予防が注目されている。そこで、第3節では MAK の抗酸化能に基づいたストレプトゾトシン誘発 1 型糖尿病モデルマウスに対する高血糖の改善作用、酸化ストレスの軽減効果について概説した。以上、これらの知見から MAK の機能性食品としての有用性について概説する。

第1節

1. 正常血糖マウスにおける糖負荷後の MAK の血糖上昇抑制作用²⁵⁾

MAK は単独で経口投与しても、正常血糖マウス (ICR マウス) の空腹時血糖値に影響を与えないが、マルトースの経口糖負荷試験では、蒸留水を投与した対照群と比較して MAK 投与後 30 分および 60 分の血糖上昇を抑制する (図 1)。マルトース負荷による MAK 投与群の AUC は、水投与群と比較して約 18% 有意に減少するものの、グルコース負荷時には MAK 投与群と水投与群で血糖値の推移に差がないことから、MAK はグルコースの吸収作用に影響しない。一方、*in vitro* 実験から MAK はマルターゼ等の α -グルコシダーゼ活性を濃度依存的に阻害することから、小腸粘膜に存在する二糖類分解酵素活性、また唾液および膵臓由来の α -アミラーゼ活性を阻害して、ブドウ糖など単糖への変換を抑制することで、腸管からのグルコース等の吸収を遅延あるいは抑制する。しかし、糖負荷後の MAK の血糖値上昇抑制効果が α -グルコシダーゼ阻害作用による考えだけでは十分な説明ができないことから、MAK には糖類分解酵素阻害に加えて MAK によるインスリン分泌促進作用などが関与している可能性が考えられ

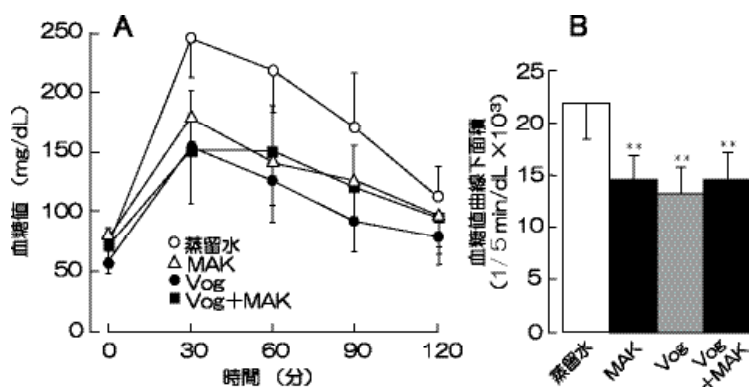


図1 ICR マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に与える MAK 単独、ボグリボース単独とその併用効果²⁵⁾
MAK (1 g/kg) 単独、ボグリボース (0.1 mg/kg) 単独、その併用によるマルトースの経口糖負荷試験を行った。
A. 蒸留水 (○), MAK 単独 (△), ボグリボース単独 (●, Vog) あるいはボグリボースと MAK 併用 (■, Vog+MAK) 時の単回糖負荷試験を、マルトース (2 g/kg) を負荷して行った。
B. 蒸留水, MAK 単独, ボグリボース単独, ボグリボースと MAK 併用時の単回糖負荷試験による血糖値曲線下面積を示した (** $p < 0.01$)。

る。すでに、グアバ葉熱水凍結乾燥粉末を用いた同様の実験¹²⁾でこのような知見が得られている。

マンネンタケ成分の血糖降下作用については、曳野ら^{10, 11)}がマンネンタケ子実体中の分子量約 3000 の多糖ガノデラン A および B がマウスの血糖降下作用を示すことを報告している。また、特異的かつ強力な α -グルコシダーゼ阻害作用を示す成分 SKG-3 が単離されている²⁶⁾。さらに、マンネンタケの子実体から熱水抽出された分子量約 58 万の多糖が脾臓 B 細胞からのインスリン分泌を促進するとしており⁸⁾、MAK にも類似した分子が含まれているものと考えられる。このように、マンネンタケを含む多くのキノコから生理活性物質が報告されているものの、再現性などの点から子実体を材料とした成分抽出には複数の欠点がある。例えば、多くの場合子実体発生までには相当の時間が必要であり、その摘み取り時期や産地の違いによる成分含量のばらつきや抽出効率が一定でないこと、さらにはカビなどの微生物の汚染を受けやすいことなどがある。これに対して MAK は、マンネンタケ菌糸体をバガスと脱脂した米糠の混合固形培地に接種して子実体発生直前まで培養した培地まるごとの熱水抽出物である。つまり、霊芝菌糸のみの培養によって得られたものであり、培養条件をコントロールしやすく、抽出物質の品質が安定している点が特徴である。また、子実体発生を待つことなく培養を終了させるために、培養期間を短縮できる。これまでに、MAK には多糖体、プロテオグリカン、テルペノイドなどのマンネンタケ菌糸体由来成分に加え、菌糸体による固形培地の分解物である水溶性リグニンや菌糸体の自己消化成分などの水溶性生理活性成分が含まれていることが明らかになっている。また、バガス、米糠、菌糸体、子実体中の各成分比率は MAK と大きく異なることから、水溶性リグニンをはじめとした培地の分解物や菌糸体の自己消化成分などの水溶性生理活性物質が MAK の生理活性を発揮していると考えられる。本節で示された

MAK の血糖上昇抑制作用の一つが、 α -グルコシダーゼ阻害作用によるものであることから、MAK にもすでに報告された SKG-3 と同様の物質が含有し、これが血糖降下に関与したと考えられる。一方、マンネンタケ子実体に見出されている水溶性多糖によるインスリン分泌促進作用の知見から、今後 MAK の血糖上昇抑制作用とインスリン分泌促進作用との関連についてさらなる検討が必要である。

2. 正常血糖マウスにおける MAK と食後過血糖改善薬の併用効果²⁵⁾

経口摂取された糖質は、小腸粘膜上皮において最終的な消化を受け、刷子縁から吸収される。刷子縁上には、マルターゼやスクラーゼなどの α -グルコシダーゼ（二糖類加水分解酵素）が存在し、二糖類を単糖類に分解することで糖が吸収される。 α -グルコシダーゼ阻害剤は、酵素の活性部位に結合し、二糖類の結合を競合して阻害することにより、糖質の消化・吸収を遅延させ、食後過血糖を改善する薬物である。この薬物は、食後以外の血糖値には影響せず低血糖を誘発しないため、空腹時血糖が良好であるが食後血糖が高値を示す 2 型糖尿病患者に第一選択薬として多く用いられている。そこで、軽度糖尿病患者に頻繁に処方される食後過血糖改善薬の α -グルコシダーゼ阻害薬（ボグリボース、アカルボース）と MAK との併用効果について検討した。*in vitro* 実験から、低濃度の α -グルコシダーゼ阻害薬と MAK を混合すると、MAK の濃度に依存してマルターゼ阻害作用が増強されるものの、効果量の α -グルコシダーゼ阻害薬に MAK が共存しても作用の増強は認められない（図 2）。また、ICR マウスを用いた糖負荷試験（*in vivo* 試験）において MAK を併用した場合でも、ボグリボースの効果量での血糖上昇抑制効果に対してほとんど影響がなく、他の α -グルコシダーゼ阻害薬であるアカルボース（グルコバイ錠、バイエル薬品）を用いた実験結果も同様であった（図 1）。従って、正常血糖マウスにおいては、MAK と効果量の

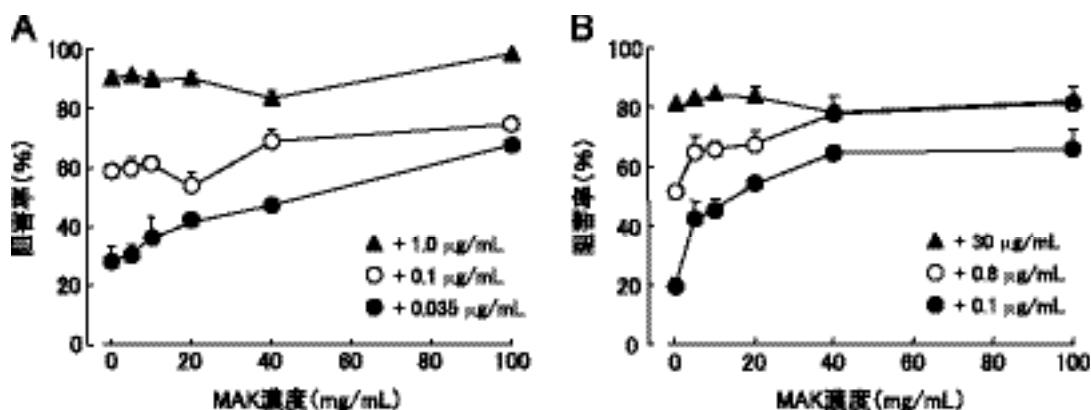


図2 マルターゼ活性に対する α -グルコシダーゼ阻害薬と MAK の併用効果²⁵⁾

A. ボグリボースと MAK の併用効果

マルターゼによるグルコースの生成量を 100 % として、ボグリボースと MAK 混合時の阻害率 (%) を示した。

B. アカルボースと MAK の併用効果

マルターゼによるグルコースの生成量を 100 % として、アカルボースと MAK 混合時の阻害率 (%) を示した。

すべての値は平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=5) で示した。

これら食後過血糖改善薬を併用しても過度の血糖降下を生じないと考えられる。出口ら²⁷⁾は、同様に食後過血糖改善薬の効果量に食後血糖値上昇抑制作用を示すギャバ葉抽出液を併用しても薬剤の作用に影響を及ぼさないことを報告している。これらの結果から、糖類分解酵素阻害活性を有する MAK は、比較的マイルドな食後過血糖改善効果を示すと同時に、効果量の食後過血糖改善薬を併用しても過度の血糖降下作用を及ぼさないと考えられる。

現在、様々なサプリメントや健康食品などが一般社会に流通しており、医療機関から処方される薬剤とこれらを併用する機会が増加している。中でも軽度糖尿病患者の多くは、食後過血糖改善薬を服用しており、このような患者が血糖上昇抑制作用を示す食品・食品成分を摂取した場合、薬剤との相互作用を考慮する必要がある。今後、医薬品と食品・食品成分の相互作用に関する安全性確保の観点から、適切なモデル実験により得られた種々の薬剤と食品の併用効果に関する情報が消費者に提供され、医薬品と食品が安全に利用されることが望まれる。

第2節

1. 2型糖尿病モデルマウスにおける糖負荷後の MAK の血糖上昇抑制作用²⁸⁾

神内ら²⁸⁾は、食品の三次機能を医療に活用できないかと考え軽度糖尿病態での MAK の作用について解析した。そのため、遺伝的に改変して作製された2型糖尿病モデルの KK-A^y マウスを用いて、単回糖負荷による血糖上昇に対する MAK の作用について検討した (図3)。

MAK は、KK-A^y マウスの空腹時血糖値に影響を与えることなくマルトース負荷による血糖値の上昇を抑制した。また、グルコース負荷時には MAK 投与群と対照群の血糖値の推移に差は認められなかったことから、MAK はグルコースの吸収過程には影響しないと考えられる。しかし、正常血糖マウスと異なり KK-A^y マウスの血糖値は、空腹時 (17 時間絶食後) では 100 ~ 130 mg/dL 前後であったが、糖負荷後 30 分には約 400 mg/dL まで急激に上昇し、著しい食後過血糖が生じた。しかし、MAK の投与によってマルトース負荷による血糖値の上昇に対して顕著な抑制作用を示したことから、正常血糖マウスだけでなく糖尿病モデルマウスにおいても空腹時血糖に影響することなく血糖値の上昇を

抑制できることを示唆した。そこで、MAK 中の血糖上昇抑制作用を示す物質が α -グルコシダーゼ阻害剤と類似した作用機序を介すると思われることから、食品と医薬品の相互作用の観点から、 α -グルコシダーゼ阻害剤と MAK の同時服用による相互作用について検討した。

2. 2 型糖尿病モデルマウスにおける MAK と食後過血糖改善薬の併用効果²⁸⁾

第 1 節では、正常血糖の ICR マウスを用いた実験から、 α -グルコシダーゼ阻害剤と MAK を併用した場合、これら薬剤単独による血糖上昇抑制効果と同程度か、もしくは若干減弱することが明らかになった³⁾。ところが、KK-A^y マウスを用いた実験では、アカルボースと MAK を併用した場合には、アカルボース単独の場合と同程度の血糖値上昇抑制作用を示すものの、ボグリボースと MAK の同時投与の場合には、血糖値上昇抑制作用がほぼ完全に消失した (図

3)。因みに、MAK の投与時期をボグリボース投与 30 分前、60 分前と間隔時間を長くするに従って血糖降下作用が徐々に回復した。第 1 節で述べたように、正常血糖マウスではこのような相互作用は認められなかったことから、この現象は 2 型糖尿病状態の KK-A^y マウスにおいて見られるもので、ボグリボースと MAK 中に含まれる何らかの物質との直接あるいは間接的な相互作用によるものと考えられるが、現時点でこのメカニズムの詳細については明らかではない。一方、効果量のアカルボースと MAK を併用しても過度の血糖降下作用は認められないことから、MAK とアカルボースの同時服用では相互作用は生じないと考えられる (図 4)。

出口ら²⁷⁾ は、正常血糖マウスを用いてボグリボースおよびアカルボースの効果量に食後血糖上昇抑制作用を示すグァバ葉抽出物を併用しても薬剤の作用に影響を及ぼさないことを報告している。しかし、我々の 2 型糖尿病モデル

マウスを用いた結果は、このような健康食品と医薬品の相互作用に関する安全性の評価において、適切なモデル動物による実験を併せて行うことが必要であることを強く示唆している。

ところで、 α -グルコシダーゼ阻害薬の服用による腹部膨満、鼓腸、便秘、下痢などの副作用が現れた場合、使用量を中止または減量する必要がある。その際、減量によってもその効果が維持できるように、図 2 で示す結果から MAK と薬剤を適切な割合で併用することで、副作用を回避して血糖を効果的にコントロールできる可能性がある。また、*in vivo* 動物実験において効果量の α -グルコシダーゼ阻害剤に MAK を併用しても低血糖など際立った影響を与えないことから、薬物との相互作用の観

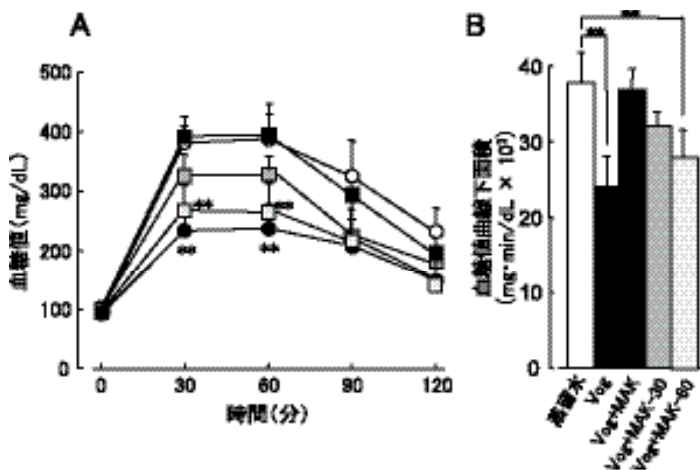


図3 KK-A^y マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に対するボグリボースと MAK の併用効果²⁸⁾

- A. 蒸留水 (○), ボグリボース溶液 (0.1 mg/kg, ●, Vog) あるいはボグリボース (0.1 mg/kg) と MAK の (1 g/kg) 混合溶液 (■, Vog+MAK) を経口投与後、ただちにマルトース (2 g/kg) 負荷を行った。また、ボグリボース投与前 30 分 (□, Vog+WER - 30) あるいは 60 分前 (□, Vog+MAK - 60) に MAK (1 g/kg) を経口投与後、ボグリボース (0.1 mg/kg) を投与した後、ただちにマルトース (2 g/kg) 負荷を行った (***p* < 0.01)。
- B. 蒸留水, ボグリボース単独, ボグリボースと MAK 投与時の血糖値曲線下面積を示した (***p* < 0.01)。

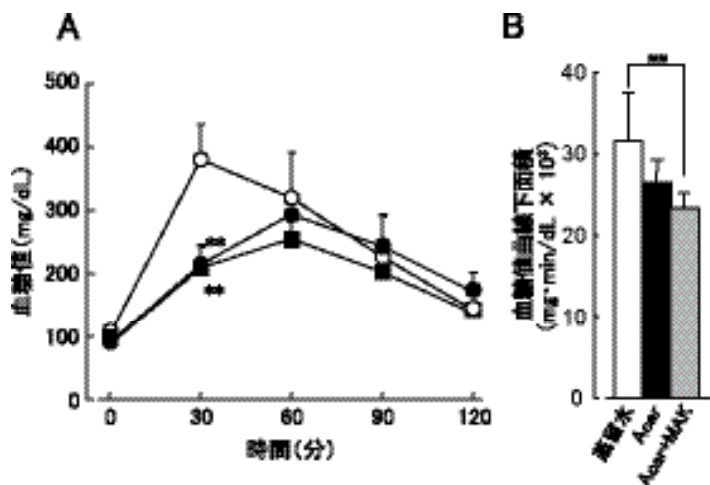


図4 KK-A^y マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に対するアカルボースと MAK の併用効果²⁸⁾

- A. 蒸留水 (○), アカルボース溶液 (16 mg/kg, ●, Acar) あるいはアカルボース (16 mg/kg) と MAK (1 g/kg) の混合溶液 (■, Acar+MAK) を経口投与後, ただちにマルトース (2 g/kg) 負荷を行った。
 B. 蒸留水, アカルボース単独, アカルボースと MAK 併用時の血糖値曲線下面積を示した (***p* < 0.01)。

点において MAK の安全性が示された。その一方で, ボグリボース投与で認められたように, 薬物によってはモデル動物に依存して MAK の同時服用が薬物の効果に大きく影響する可能性もある。従って, 研究者は今後もこのような動物実験に注意を払い, 健康食品を安全かつ効果的に利用するための基礎データの提供に努めなければいけない。

第3節

1. 培養経過による成分組成および抗酸化活性の変化²⁹⁾

岡崎ら²⁹⁾ は, MAK の培養期間ごとの抗酸化活性を調査し, STZ 誘発糖尿病マウスに対する MAK の糖尿病態改善効果を検証した。バガスと脱脂した米糠からなる混合固形培地を充填した培養基にマンネンタケ菌糸体を接種して観察すると, 菌糸体接種1ヶ月後には菌糸が培養基全体の2/3 から3/4 程度に繁茂し, 2ヶ月経過すると菌糸が全体に蔓延し菌糸密度がさらに増加, 4ヵ月後には子実体の発生が始まり, 5ヵ月後には子実体の伸長と

培地の収縮が認められる。これらの1ヶ月毎のマンネンタケ菌糸体培養培地から調製した水抽出液 (培養サンプル) 中の糖質, タンパク質, リグニンの比率は, 灰分およびタンパク質の含量 (%) は培養期間を通じてほぼ一定であったが, リグニンの比率は培養開始後徐々に増加し, 培養3ヶ月で最大となり, 4ヶ月以降ほぼ一定となった。糖質の含量 (%) は, 培養3ヶ月で最大となりその後徐々に減少した (図5)。

1～5ヶ月間の経時的な培養で得られた培養サンプルすべての・O₂⁻ 消去能は, ビタミンCと比べて弱いものの, これら培養サンプルは全て濃度依存的な

・O₂⁻ 消去能を有していた。中でも3ヶ月間培養サンプルが最も高い活性を示し, 4ヶ月の培養サンプルについても3ヶ月のものとはほぼ同等であったが, それ以降活性に変動はなかった。過酸化脂質産生抑制能は, 1～4ヶ月培養サンプルすべてがビタミンCと同等かそれ以上の効力を示した。特に, 2ヶ月の培養サンプルが最も高い効果を示したが, 5ヶ月培養した

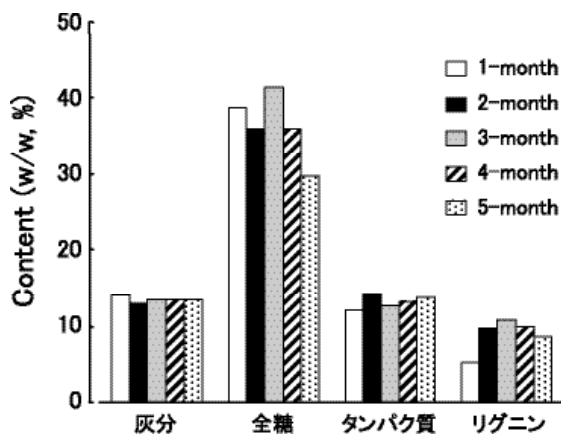


図5 培養期間の違いによる各培養サンプルの灰分, 全糖, タンパク質, リグニンの比率²⁹⁾

サンプルの過酸化脂質産生抑制能は著しく減弱した。培地成分のバガスおよび米糠の $\cdot\text{O}_2^-$ 消去能は、MAKのどの培養期間のサンプルよりも弱かったが、バガスの過酸化脂質産生抑制能はMAKの3ヶ月培養サンプルと同等の比較的高い効力を示した。つまり、抗酸化能は培養期間によって変化し、2～3ヶ月間の培養で最大となることから、収量などの点からも製品化するうえで3.5ヶ月培養は適切で妥当な期間であると考えられる。

2. 1型糖尿病態マウスの酸化ストレス度に対するMAKの影響²⁹⁾

MAK (1g/kg bw) を正常血糖お

よびSTZ誘発糖尿病マウスに一日一回経口投与し、血糖値の推移を観察した。STZの投与によりマウスの血糖値は徐々に上昇し、6～8週間で約900 mg/dLに達し一定となったが、MAKを投与したSTZ群 (STZ+MAK群) では、蒸留水を投与した群 (STZ+water) と比較して、MAK投与後4週以降から徐々に血糖上昇の抑制が認められた。この飼育期間中の血中ヒドロペルオキシド濃度を指標とした体内酸化ストレス度 (d-ROMs test) は、STZ+water群ではSTZ投与後5週以降において上昇したが、STZ+MAK群では酸化ストレス度の上昇はみられていない (図6)。

3. マウス臓器中の過酸化脂質含量に対するMAKの影響²⁹⁾

STZ+water群の肝臓および腎臓の過酸化脂質含量は、Normal+water群と比較し約2倍程度有意に増加したものの、STZ+MAK群では、過酸化脂質含量は増加せず、その傾向は心臓、脳、脾臓および肺においても同様であった。さらに、STZ+water群の肝臓と腎臓では、SOD、CATおよびGPxの活性がNormal+water群に比

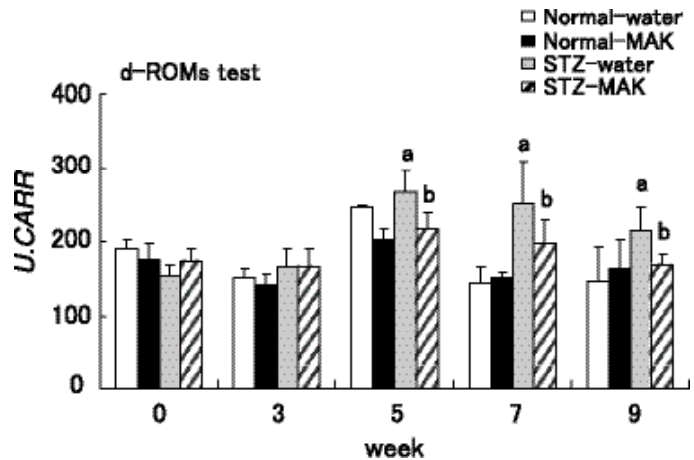


図6 MAK投与による血漿中酸化ストレス度の変化²⁹⁾
酸化ストレス度は、d-ROMs (Reactive Oxygen Metabolites) テストキットを使用して測定した。(n=3～5)
データは平均値±標準偏差として表示した。統計的有意差は一元配置分散分析 (ANOVA) 後、Tukeyの多重比較により解析し、 $p < 0.05$ を有意差として示した。

べ有意に低下していたが、これに対してSTZ+MAK群ではいずれの抗酸化酵素においても活性の低下はみられず、Normal群と同程度の活性が維持されていた。

4. 肝臓および腎臓の組織化学的評価²⁹⁾

STZ+water群の肝臓では、肝細胞の軽度から中等度の萎縮とこれによる類洞の拡張が認められたが、STZ+MAK群ではこれらの異常は軽微であった。一方、STZ+water群の腎臓では、糸球体のメサンギウム基質領域の拡大が認められたが、STZ+MAK群ではこれが抑制されていた。さらに、STZ+water群の腎臓において尿細管間質で限局性の慢性炎症性細胞浸潤および肉芽形成が見られたが、STZ+MAK群ではこのような異常は認められなかった。従って、MAKは濃度依存的な $\cdot\text{O}_2^-$ 消去能および過酸化脂質産生抑制能を示し、MAKを投与したSTZ糖尿病マウスにおいて血糖値および血中酸化ストレス度を有意に低下させる。また、MAKは腎臓および肝臓の過酸化脂質含量および抗酸化酵素活性を正常群と同レベルに維持し組織学的障害を軽減するなど、MAKが糖尿病における高血

糖および酸化ストレスを低下させ臓器障害を予防・改善する可能性を示唆している。

岩田ら³⁰⁾は、酸化ストレスに起因する一過性脳虚血の重症化を回避するために、医薬品の代替となりうる食品を探索し、有効性や安全性について検証している。数十種類の天然物の中から抗酸化作用を指標として食品を探索した結果、MAKが極めて強い作用を有していること、さらに、STZ誘発糖尿病態ラットの一過性脳虚血処置において、非糖尿病態ラットと比べて顕著に脳障害が悪化することに基づいて、この現象がMAKの経口投与によって有意に軽減できることを見出している。このような虚血性脳障害のメカニズムの一因には、酸化ストレスや炎症関連因子の発現を経由してアポトーシスが大きな役割を占めることを明らかにしており、少なくとも糖尿病態時の酸化ストレス状態が病態の重症化につながり、MAKによる酸化ストレスの軽減作用が病態の改善に寄与していると結論している。

本総説では、MAKの高血糖改善効果について、正常血糖マウスにおける糖負荷後の血糖上昇抑制作用と食後過血糖改善薬との併用効果に関して、*in vivo* および *in vitro* 実験結果に基づいて概説した。続いて、軽度糖尿病患者によるMAKの利用を想定し、2型糖尿病モデルマウスを用いて血糖上昇抑制作用を調査するとともに、食後過血糖改善薬との同時服用による相互作用の有無を見極めるため、2種類の α -グルコシダーゼ阻害薬とMAKの併用効果について *in vivo* 実験系で得られた結果に基づいて概説した。さらに、1型糖尿病モデルマウスを用いて高血糖や酸化ストレス状態と、これらに起因する二次的障害に対するMAKの予防・改善効果について評価した。

以上、MAKを治療を目的として活用するには一定の注意が必要と考えられるが、血糖値が高めの軽症者の生活習慣病予防対策として有用な機能性食品であると結論した。

参考文献

1. Zhu XL., Lin ZB.: Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on proliferation and cytotoxicity of cytokine-induced killer cells. *Acta. Pharmacol. Sin.*, **26**(9): 1130-1137, 2005.
2. Kohguchi M, Kunikata T, Watanabe H., *et al.*: Immuno-potentiating effects of the antler-shaped fruiting body of *Ganoderma lucidum* (Rokkaku-Reishi). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(4): 881-887, 2004.
3. Gao Y., Gao H., Chan E., *et al.*: Antitumor activity and underlying mechanisms of Ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice. *Immunol. Invest.*, **34**(2): 171-198, 2005.
4. Jiang J., Slivova V., Harvey K., *et al.*: *Ganoderma lucidum* suppresses growth of breast cancer cells through the inhibition of Akt/NF-kappaB signaling. *Nutr. Cancer*, **49**(2): 209-216, 2004.
5. Liu J., Yang F., Ye LB., *et al.*: Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. *J. Ethnopharmacol.*, **95**(2-3): 265-272, 2004.
6. Hajjaj H., Mace C., Roberts M., *et al.*: Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**(7): 3653-3658, 2005.
7. Wong KL., Chao HH., Chan P., *et al.*: Antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* in acute ethanol-induced heart toxicity. *Phytother. Res.*, **18**(12): 1024-1026, 2004.
8. Zhang HN., Lin ZB.: Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta. Pharmacol. Sin.*, **25**(2): 191-195, 2004.
9. Kimura Y., Okuda H., Arichi S.: Effects of the extracts of *Ganoderma lucidum* on blood glucose level in rats. *Planta. Med.*, **54**(4): 290-294, 1988.
10. Hikino H., Konno C., Mirin Y., *et al.*: Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta. Med.*, **51**(4): 339-340, 1985.
11. Hikino H., Ishiyama M., Suzuki Y., *et al.*: Mechanisms of hypoglycemic activity of ganoderan B: a glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta. Med.*, **55**(5): 423-428, 1989.
12. Deguchi Y., Osada K., Uchida K., *et al.*: Effects of extract of Guava leaves on the development of diabetes in the *db/db* mouse and on the postprandial blood glucose of human subjects. *J. Agri. Chem. Soc. Jap.*, **72**(8): 923-931, 1998.
13. Teramoto T., Oki N., Kusano S.: Mate leaf inhibits the activity of saccharide hydrolyzing enzymes and suppresses the increase in blood glucose levels after sugar loading in rats. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.* **58**(1): 17-21, 2005.
14. Nakagawa I., Hibino Y., Ohashi Y., *et al.*: Augmentation of cytolytic activity of mouse splenic cells by a heteroglycan protein fraction from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia. *Biotherapy*, **13**(5): 513-515, 1999.
15. Lu H., Kyo E., Uesaka T., *et al.*: A water-soluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia suppresses azoxymethane-induction of colon cancers in male F344 rats. *Oncol. Rep.*, **10**(2): 375-379, 2003.
16. Kubo N., Myojin Y., Shimamoto F., *et al.*: Protective effects of a water-soluble extract from cultured medium *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia and *Agaricus blazei* murill against X-irradiation in B6C3F1 mice: Increased small intestinal crypt survival and prolongation of average time to animal death. *Int. J. Mol. Med.*, **15**(3): 401-406, 2005.
17. Matsuzaki H., Shimizu Y., Iwata N., *et al.*: Antidepressant-like effects of a water-soluble extract from the culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia in rats. *BMC Comp. Altern. Med.*, **13**: 370, 2013.
18. Fukaya M., Iwata N., Shouji S., *et al.*: Antihypertensive effect of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) in spontaneously hypertensive rats. *New Food. Ind.*, **57** (8): 1-11, 2015.
19. Iwata N., Okazaki M., Kasahara C., *et al.*: Protective effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia against neuronal damage after cerebral ischemia/reperfusion in diabetic Rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **61**(3): 119-127, 2008.
20. Iwata N., Okazaki M., Nakano R., *et al.*: Diabetes-mediated exacerbation of neuronal damage and inflammation after cerebral ischemia in rat: Protective effects of water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma*

lucidum mycelia. *INTECH*, 215-240, 2012.

21. Baynes J.: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, **40**(4): 405-412, 1991.
22. Montilla P, Barcos M, Munoz MC, *et al.*: Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Biochem. Mol. Biol.*, **38**(5): 539-544, 2005.
23. Kamalakkannan N., Stanely MPP.: Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues. *Mol. Cell. Biochem.*, **293**(1-2): 211-219, 2006.
24. Riccioni G., Bucciarelli T., Mancini B., *et al.*: Antioxidant vitamin supplementation in cardiovascular diseases. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **37**(1): 89-95, 2007.
25. Usui T., Okazaki M., Kamiuchi S., *et al.*: Inhibitory effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia on postprandial blood glucose elevation in mice and additional effect with α -glucosidase inhibitor. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.*, **60**(5): 249-255, 2007.
26. Kim SD., Nho HJ.: Isolation and characterization of alpha-glucosidase inhibitor from the fungus *Ganoderma lucidum*. *J. Microbiol.*, **42**(3): 223-227, 2004.
27. Deguchi Y., Osada K., Watanuki M.: Effect of Guava leaf extract in combination with acarbose or voglibose on increased blood glucose level in sugar-loaded normal mice. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.*, **56**(4): 207-212, 2003.
28. Kawahara Y., Kamiuchi S., Okazaki M., *et al.*: Inhibitory effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia on postprandial blood glucose elevation in type 2 diabetic mice and additional effect with α -glucosidase inhibitors. *Jap. J. Comp. Alter. Med.*, **8**(1): 1-9, 2011.
29. Okazaki M., Tanaka A., Hatta Y., *et al.*: Antioxidant properties of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia and antidiabetic effects in streptozotocin-treated mice. *Jap. J. Comp. Alter. Med.*, **5**(3): 209-218, 2008.
30. Iwata N., Okazaki M., Iizuka H., *et al.*: Protection mechanism of exacerbation of neuronal damage after cerebral ischemia by a water-soluble extract from the culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK). *New Food Ind.*, **59**(3): 15-30, 2017.

Extracts of Edible Mushrooms による免疫賦活 および放射線防護効果に関する研究

Immunoenhancement and radioprotection effect by Extracts of Edible Mushrooms

具 然和 (Gu Yeunhwa) ¹

¹ 純真学園大学・大学院保健医療学研究科

Key Words：放射線防護剤 免疫賦活 リンパ球 抗酸化作用

要旨

放射線利用の多様化に伴い、放射線の人体に対する影響が懸念される。本研究ではブナシメジ、エノキタケからの熱水抽出物である *Extracts of Edible Mushrooms* (以下 *EEM*) を用いて放射線治療時の副作用に対する防護剤として検討した。先行研究によって *EEM* には抗腫瘍効果及び抗酸化作用があると報告されている。そこで本研究では *EEM* を用いて放射線による血球細胞に対する影響、および抗酸化活性について検討し、放射線防護剤への基礎データを資することを目的とした。

血球細胞レベルにおいては7週齢ICRマウスを用いて、*EEM* をマウスに25μg/0.5mL/体重(kg)の濃度で腹腔内投与を行った。投与期間は隔日間隔で2週間以上行った。実験グループはControl群、*EEM* のみ投与したSham control群、2.0Gy放射線単独照射群、*EEM*+2.0Gy放射線照射群である。放射線照射1日前、3時間後、24時間後、3日後、7日後、15日後、30日後に採血を行った。測定項目は、白血球数、リンパ球数、顆粒球数、単球数、赤血球数、血小板数とした。

抗酸化活性においては7週齢ICRマウスを用いて、*EEM* をマウスに25μg/0.5mL/体重(kg)の濃度で腹腔内投与を行った。投与期間は隔日間隔で2週間以上行った。

実験グループはControl群、*EEM* のみ投与したSham control群、2.0Gy放射線単独照射群、*EEM*+2.0Gy放射線照射群である。放射線照射後ただちに心臓から採血を行い、遠心分離にて血清を得た。血清にルミノール試薬を添加して化学発光強度を測定し、抗酸化活性の評価を行った。

血球細胞レベルにおいては白血球数については、2.0Gy放射線単独照射群と*EEM*+2.0Gy放射線照射群の間でMaleマウスの放射線照射24時間後、7日後、15日後、30日後において統計学的な有意差が認められ、また、Femaleマウスの放射線照射24時間後、7日後において統計学的な有意差が認められた。リンパ球数については、2.0Gy放射線単独照射群と*EEM*+2.0Gy放射線照射群の間でMaleマウスの放射線照射15日後において統計学的な有意差が認められた。顆粒球数については、2.0Gy放射線単独照射群と*EEM*+2.0Gy放射線照射群の間でMaleマウスの放射線照射1日前、24時間後、7日後、15日後、30日後において統計学的な有意差が認められ、また、Femaleマウスの放射線照射12時間後、15日後において統計学的な有意差が認められた。単球数については、2.0Gy放射線単独照射群と*EEM*+2.0Gy放射線照射群の間でMaleマウスの放射線照射3時間後において統計学的な有意差が認められた。血清中の抗酸化活性については、2.0Gy放射線単独照射群と*EEM*+2.0Gy放射線照射群の間に統計学的な有意差が認められた($p<0.05$)。本研究において、白血球、リンパ球、顆粒球、単球に対する放射線防護効果が認められた。これは、*EEM* の抗酸化作用による細胞障害の抑制および、免疫賦活作用による血球数の増加が考えられる。また、放射線照射によるフリーラジカルに対するラジカル除去効果が認められた。これは、*EEM* の主成分であるβグルカンの抗酸化作用によるものと考えられる。従って、本研究により*EEM* により放射線防護効果が確認された。

はじめに

放射線は現在の我々の日常生活において様々な分野で多く用いられている。医療分野、理学・工学・生物分野、産業分野で広く利用されており、我々は放射線に接する機会が多くなっている。そのため、放射線の人体に対する影響を無視することはできない。造血組織の放射線感受性も高く、放射線治療時における白血球や骨髄細胞の減少によって引き起こされる免疫力の低下は顕著である¹⁻³⁾。従って、いかに放射線から人体を防護するかということが重要な課題となる。これまでに、様々な放射線防護の研究が行われており、人体に対する放射線防護が大変注目されている。また、放射線治療時の副作用防止のための薬剤として検討されてきた⁴⁻⁵⁾。

本研究では、日本で多く栽培されているエノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*) からの抽出物を主成分とする *Extracts of Edible Mushrooms* (以下 *EEM*) を用いて放射線防護効果について検討を行った。エノキタケには、EA₃ (β - (1 → 3) -D- グルカン)、EA₅ (ヘテロ多糖)、EA₆ (蛋白質結合多糖)、プロフラミン (糖蛋白質) といった成分が含まれている。先行研究において、これらの成分に免疫賦活作用による抗腫瘍効果が認められている⁶⁻¹¹⁾。一方、ブナシメジには β - (1 → 3) -D- グルカンが含まれており、免疫賦活作用による抗腫瘍効果が認められている¹²⁻¹⁵⁾。また、血漿における抗酸化活性の上昇も認められている。

本研究では *EEM* の免疫賦活作用、抗酸化作用に着目し、放射線によって生じる外表奇形、骨格奇形の観察を行い、その影響について検討を行う。また、血液レベル、抗酸化活性の観察を行い、放射線防護剤に資するための情報を入手することを目的とする。

1. 研究方法

ICR[Crlj:CD-1 (Swiss Haucka)] を用いた。ICR マウスは、日本 SLC 社において Closed Colony として増産されたものを購入した。

ICR マウスは入手が容易で繁殖力が強いいため、日本での奇形実験に多く用いられている。本研究の飼育条件に慣らすために購入後 1 週間の予備飼育を行い実験に用いた。

鈴鹿医療科学大学に設置されているフィリップス社製の放射線照射装置 (MG226/4.5 (225kv)) および、東芝社製リニアック (LMR-4 型 (4MV)) を用いた。*EEM* はエノキタケ、ブナシメジから熱水抽出されたものを用いた。

マウス購入後、本実験の飼育条件に慣らすために最低 1 週間の予備飼育を行い、実験を開始した。飼育条件は AM6:00 ~ PM6:00 までライトコントロールし、室温は 22 ± 2℃、湿度は 60 ~ 65% とした。飼料 (CA-1, 日本クレア (株)) および水 (Top water) は自由摂取させた。本実験に用いたマウスの週齢は Female マウス、Male マウス共に 7 週齢である。

EEM の投与量は、生理食塩水 0.5mL あたり 25μg/0.5mL/ 体重 (kg) の濃度で、予備飼育後、最低 2 週間から採血終了時まで隔日間隔で腹腔内投与を行った。鈴鹿医療科学大学に設置されているフィリップス社の放射線照射装置 (225kV) を用い、採血開始 1 日前のマウスを照射ゲージに入れ、線量率 0.35Gy/min で 2.0Gy の全身照射を行った。Male マウスと Female マウスをそれぞれ、Control 群、*EEM* 投与のみの群 (以下 Sham Control 群)、2.0Gy 放射線単独照射群、*EEM* を投与し 2.0Gy 放射線を照射した群の計 8 群に分類した。各群使用したマウスは Male, Female それぞれ 5 匹ずつである。マウスを採血用ゲージに入れ、スピッツメスを用いて尾静脈に傷をつけ、そこから Doramond 社製のマイクロピペットで 10μL の血液を採取した。傷口は感染症を防ぐために 70% アルコールで消毒した。

鈴鹿医療科学大学に設置してある日本光電社製の自動血球測定装置 (Celltac α MEK-6318) を用いて、放射線照射 1 日前、照射後 3 時間後、12 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後、15 日後、30 日後に採血し血球測定を行った。今回測定した項目は、白血球数、リンパ球数、顆粒球数、

単球, 赤血球数, 血小板数である。

血球細胞レベルの影響に対する統計学的分析については, 血液レベルの影響である血液細胞の増加, 減少は正規分布に従うめ, *t*-検定を行った。

1-1. 血清中の抗酸化活性の実験方法

マウスの飼育方法については, マウス購入後, 本実験の飼育条件に慣らすために最低1週間の予備飼育を行い, 実験を開始した。飼育条件はAM6:00 ~ PM6:00までライトコントロールし, 室温は $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度は60 ~ 65%とした。飼料(CA-1, 日本クレア(株))および水(Top water)は自由摂取させた。本実験に用いたマウスの週齢はMaleマウス7週齢である。

EEMの投与量は, 生理食塩水0.5mLあたり $25\mu\text{g}/0.5\text{mL}$ /体重(kg)の濃度で, 予備飼育後, 最低2週間から抗酸化活性測定前日まで隔日間隔で腹腔内投与を行った。鈴鹿医療科学大学に設置されている東芝社製リニアック(LMR-4型(4MV))を用い, 抗酸化活性測定当日にマウスを照射ゲージに入れ, 線量率 $1.2\text{Gy}/\text{min}$ で 2.0Gy の全身照射を行った。

Maleマウスをそれぞれ, Control群, EEM投与のみの群(以下Sham Control群), 2.0Gy 放射線単独照射群, EEMを投与し 2.0Gy 放射線を照射した群の計4群に分類した。各群使用したマウスは10匹ずつである。

抗酸化活性測定方法については, ルミノール法¹⁾により抗酸化活性を測定した。ルミノールは O_2^- などのフリーラジカルに酸化されると, アミノフタル酸アニオンの励起分子を生じ, これが基底状態に遷移する過程で発光する¹⁾。この発光強度(counts/min)を測定することによって, フリーラジカルの量を測定することができる。抗酸化活性測定に用いた試薬は以下の方法²⁾で調整した。

1) AAPH 試薬の調整

- ① Na_2HPO_4 7.098gを蒸留水に溶かし, 500mLにメスアップ→0.1M Na_2HPO_4 溶液
- ② NaH_2PO_4 5.999gを蒸留水に溶かし, 500mLにメスアップ→0.1M NaH_2PO_4 溶液

- ③ 0.1M Na_2HPO_4 305mL + 0.1M NaH_2PO_4 195mL → 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0)

- ④ AAPH 5.4238gを500mLの0.1M リン酸緩衝液に溶解→AAPH 試薬

ルミノール試薬の調整については,

- ① NaOH 20gを500mLの蒸留水に溶解→1MNaOH

- ② ホウ酸 1.54575gを400mLの蒸留水に溶かし, 1MNaOHでpHを9.3に合わせた後, 500mLまでメスアップ→0.05M ホウ酸緩衝液

- ③ 0.05M ホウ酸緩衝液とメタノールを1:3の割合で希釈した溶液500mLに, チトクローム 50.438mgとルミノール 9.744mgを溶解→ルミノール試薬

まず, マウスを仰向けにして動かないようにコルク板に固定した後開胸し, ヘパリン処理した。TERUMO社製の1mLシリンジを用いて心臓より1mLの血液を採取した。採取した血液はただちにヘパリン処理した遠心管に移し, 国産遠心器株式会社製の遠心機(H-500R)を用いて1000rpmで10分間遠心分離を行った。次に, 得られた上清(血清)をピペットにて採取し0.1Mリン酸緩衝液にて100倍に希釈して $200\mu\text{L}$ にメスアップした。この溶液にラジカル発生剤としてAAPH試薬 $200\mu\text{L}$ を添加しよく攪拌した後, ALOKA社製のルミネセンスリーダー(BLR-201)を用いて 37°C で2分間加温処理し, ルミノール試薬 $200\mu\text{L}$ を添加して化学発光強度を測定した。

抗酸化活性に対する統計学的分析については, 血清中の抗酸化活性の増加, 減少は正規分布に従うめ, *t*-検定を行った。

2. 研究結果

2-1. 血球レベルにおける放射線影響白血球 (Leukocytes)

Fig.1にMaleマウスの白血球数の経時的変化を示す。Fig.2にFemaleマウスの白血球数の経時的変化を示す。白血球数の経時的変化において, Control群に比べSham Control群では, Maleマウスの放射線照射3日後において

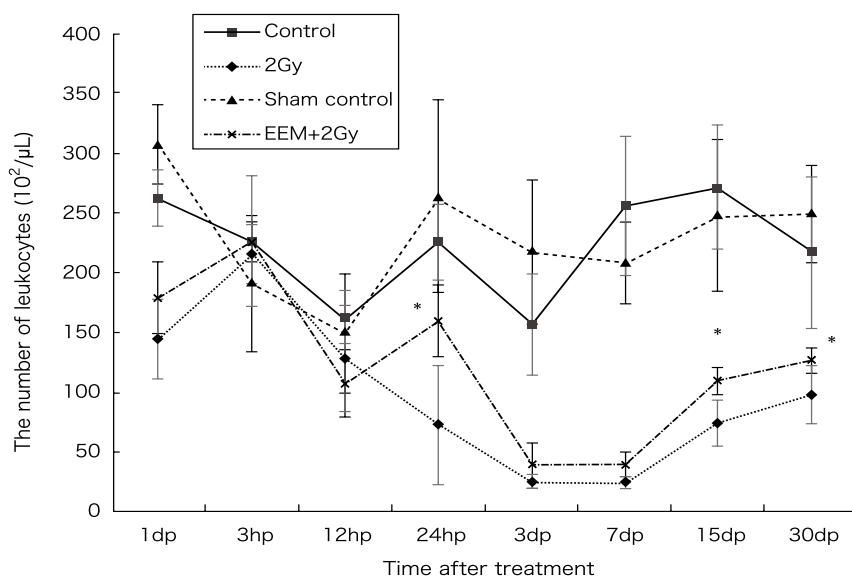


Fig.1. The change in the number of leukocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 male mice leukocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

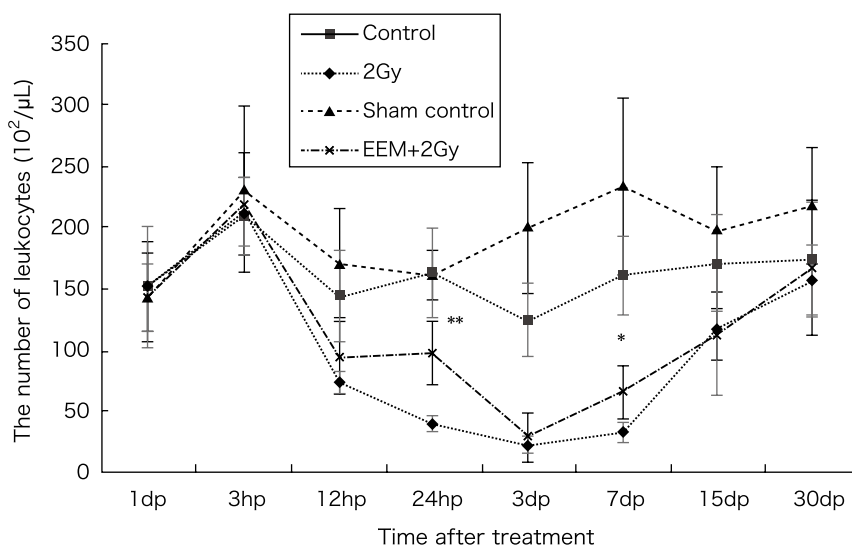


Fig.2. The change in the number of leukocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice leukocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

統計学的な有意差が認められ ($p < 0.05$), 同様に Female マウスについても放射線照射 1 日前において統計学的な有意差が認められた ($p < 0.05$)。

Control 群に比べ, 2.0Gy 放射線単独照射群では, Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p < 0.001$),

24 時間後 ($p < 0.001$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.001$), 15 日後 ($p < 0.001$), 30 日後 ($p < 0.01$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p < 0.01$), 24 時間後 ($p < 0.001$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.001$) において統計学的な有意差

が認められた。

Control 群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.01$)、12 時間後 ($p<0.01$)、24 時間後 ($p<0.01$)、3 日後 ($p<0.001$)、7 日後 ($p<0.001$)、15 日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 3 日後 ($p<0.001$)、7 日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.001$)、24 時間後 ($p<0.01$)、3 日後 ($p<0.001$)、7 日後 ($p<0.001$)、15 日後 ($p<0.001$)、30 日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p<0.01$)、24 時間後 ($p<0.001$)、3 日後 ($p<0.001$)、7 日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 24 時間後 ($p<0.01$)、7 日後 ($p<0.05$)、15 日後 ($p<0.01$)、30 日後 ($p<0.05$) において統計学的

な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 24 時間後 ($p<0.01$)、7 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

リンパ球 (Lymphocytes)

Fig.3 に Male マウスのリンパ球数の経時的変化を示す。

Fig.4 に Female マウスのリンパ球数の経時的変化を示す。リンパ球数の経時的変化において、Control 群に比べ Sham Control 群では、Male マウスの放射線照射 3 時間後 ($p<0.05$)、3 日後 ($p<0.05$)、7 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 3 日後において統計学的な有意差が認められた ($p<0.05$)。

Control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.001$)、3 時間後 ($p<0.001$)、24 時間後 ($p<0.01$)、3 日後 ($p<0.001$)、7 日後 ($p<0.001$)、15 日後 ($p<0.001$)、30 日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウ

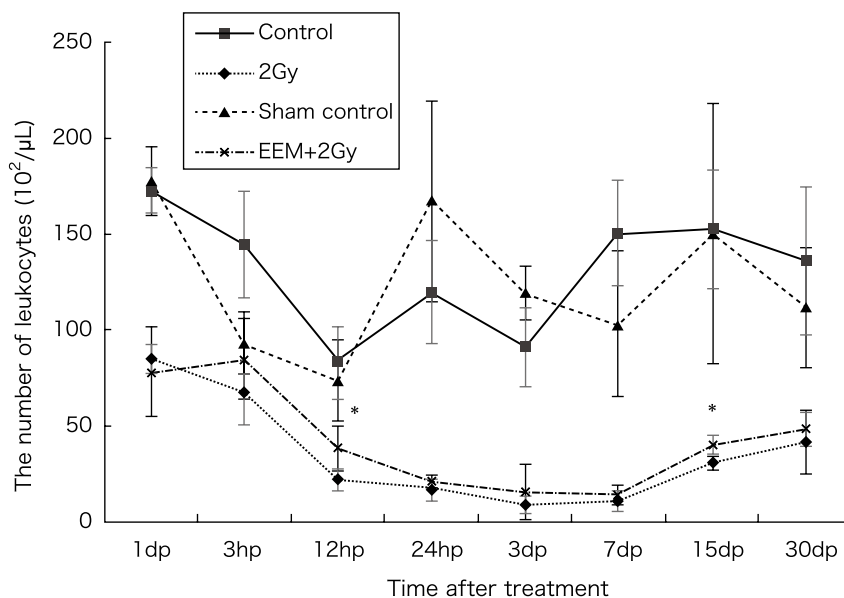


Fig.3. The change in the number of lymphocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 male mice lymphocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

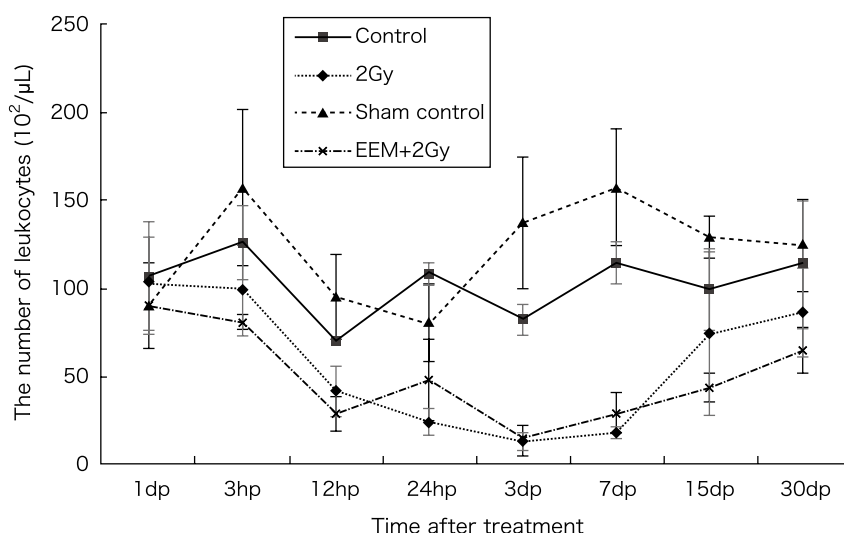


Fig.4. The change in the number of lymphocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice lymphocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

スについても放射線照射 12 時間後 ($p < 0.05$), 24 時間後 ($p < 0.01$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.001$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ, EEM+2.0Gy 放射線照射群では, Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p < 0.001$), 3 時間後 ($p < 0.01$), 12 時間後 ($p < 0.01$), 24 時間後 ($p < 0.001$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.001$), 15 日後 ($p < 0.001$), 30 日後 ($p < 0.01$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p < 0.01$), 24 時間後 ($p < 0.05$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.01$), 15 日後 ($p < 0.01$), 30 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ, 2.0Gy 放射線単独照射群では, Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p < 0.001$), 12 時間後 ($p < 0.05$), 24 時間後 ($p < 0.01$), 3 日後 ($p < 0.001$), 7 日後 ($p < 0.01$), 15 日後 ($p < 0.01$), 30 日後 ($p < 0.01$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射 3 時間後 ($p < 0.05$), 12 時間後 ($p < 0.01$), 24 時間後

($p < 0.05$), 3 日後 ($p < 0.01$), 7 日後 ($p < 0.001$), 15 日後 ($p < 0.05$), 30 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ, EEM+2.0Gy 放射線照射群では, Male マウスの放射線照射 15 日後において統計学的な有意差が認められたが ($p < 0.01$), Female マウスについては統計学的な有意差は認められなかった。

顆粒球 (Granulocytes)

Fig.5 に Male マウスの顆粒球数の経時的変化を示す。**Fig.6** に Female マウスの顆粒球数の経時的変化を示す。顆粒球数の経時的変化において, Control 群に比べ Sham Control 群では, Male マウスの放射線照射 24 時間後 ($p < 0.01$), 30 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射 24 時間後 ($p < 0.01$), 30 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ, 2.0Gy 放射線単独照射群では, Male マウスの放射線照射 3 時間後 ($p < 0.001$), 12 時間後 ($p < 0.001$), 24 時間後 ($p < 0.01$), 7 日後 ($p < 0.01$), 15 日後 ($p < 0.05$) において統

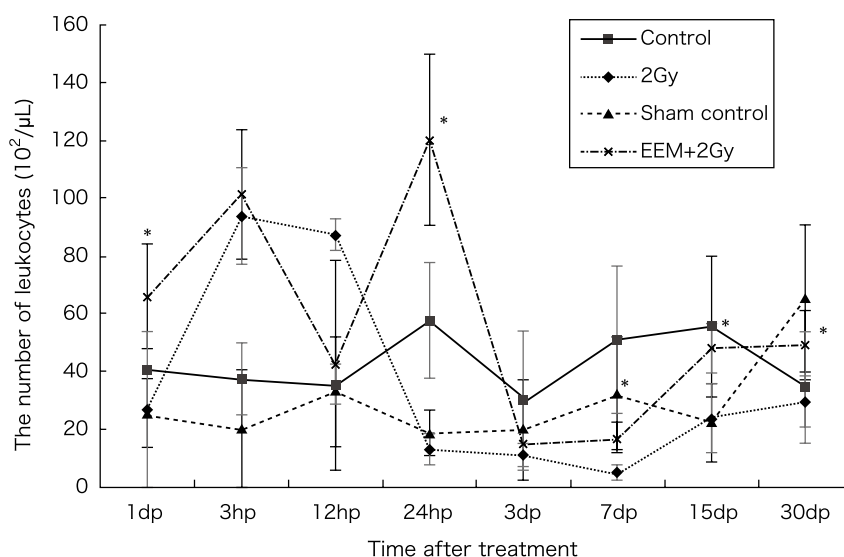


Fig.5. The change in the number of granulocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice granulocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

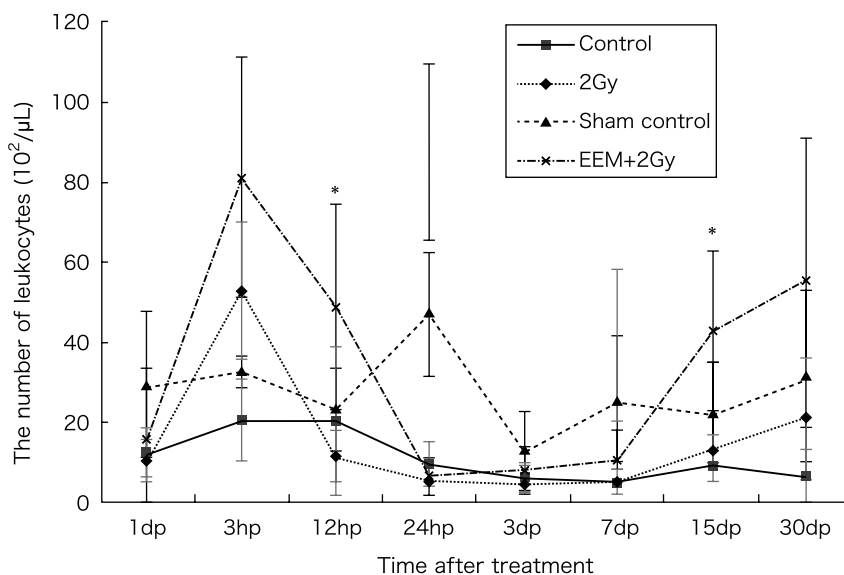


Fig.6. The change in the number of granulocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice granulocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 3 時間後において統計学的な有意差が認められた ($p < 0.05$)。

Control 群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群

では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p < 0.05$), 3 時間後 ($p < 0.001$), 24 時間後 ($p < 0.01$), 7 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線

照射3時間後 ($p<0.05$), 15日後 ($p<0.05$), 30日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ, 2.0Gy 放射線単独照射群では, Male マウスの放射線照射3時間後 ($p<0.01$), 12時間後 ($p<0.05$), 7日後 ($p<0.05$),

30日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射3時間後 ($p<0.05$), 24時間後 ($p<0.05$), 7日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ, EEM+2.0Gy

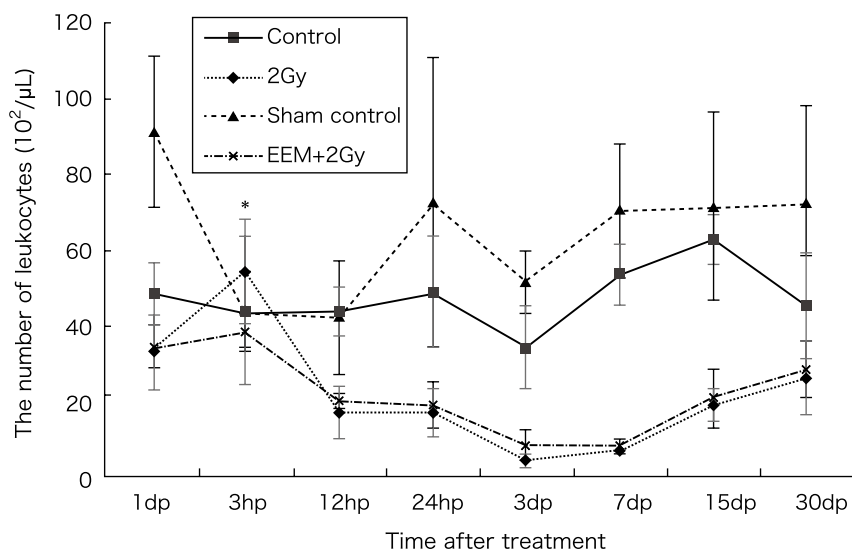


Fig.7. The change in the number of monocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice monocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

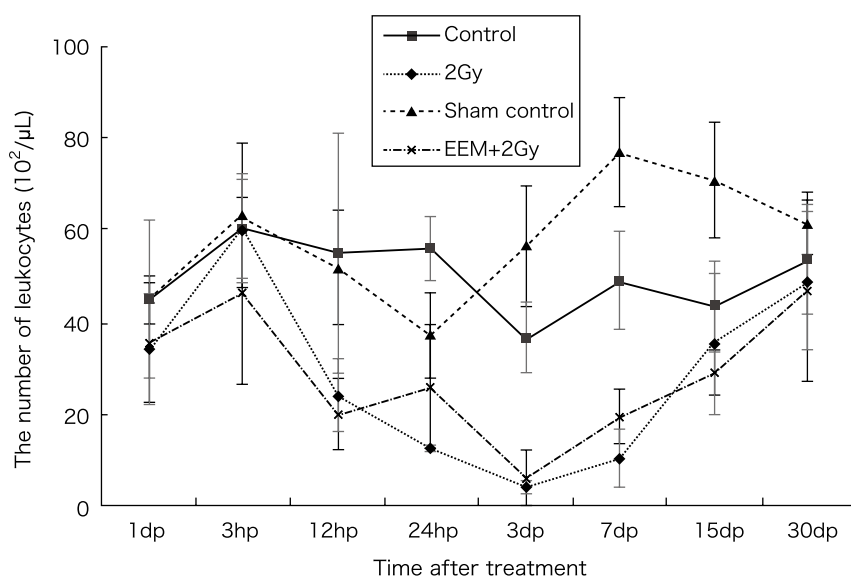


Fig.8. The change in the number of monocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice monocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.05$), 24 時間後 ($p<0.01$), 7 日後 ($p<0.01$), 15 日後 ($p<0.01$), 30 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p<0.05$), 15 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

単球 (Monocytes)

Fig.7 に Male マウスの単球数の経時的变化を示す。Fig.8 に Female マウスの単球数の経時的变化を示す。単球数の経時的变化において、Control 群に比べ Sham Control 群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.01$), 3 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 24 時間後 ($p<0.01$), 3 日後 ($p<0.001$), 7 日後 ($p<0.01$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.05$), 12 時間後 ($p<0.01$), 24 時間後 ($p<0.05$), 3 日後 ($p<0.001$), 7 日後 ($p<0.001$), 15 日後 ($p<0.001$), 30 日後 ($p<0.05$) において統計学

的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 24 時間後 ($p<0.01$), 3 日後 ($p<0.001$), 7 日後 ($p<0.01$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.01$), 12 時間後 ($p<0.001$), 24 時間後 ($p<0.01$), 3 日後 ($p<0.01$), 7 日後 ($p<0.001$), 15 日後 ($p<0.001$), 30 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 24 時間後 ($p<0.05$), 3 日後 ($p<0.01$), 7 日後 ($p<0.05$), 15 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射 1 日前 ($p<0.001$), 12 時間後 ($p<0.05$), 24 時間後 ($p<0.05$), 3 日後 ($p<0.001$), 7 日後 ($p<0.001$), 15 日後 ($p<0.01$), 30 日後 ($p<0.01$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p<0.01$), 24 時間後 ($p<0.05$), 3 日後 ($p<0.001$), 7 日後 ($p<0.001$), 15 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ、EEM+2.0Gy

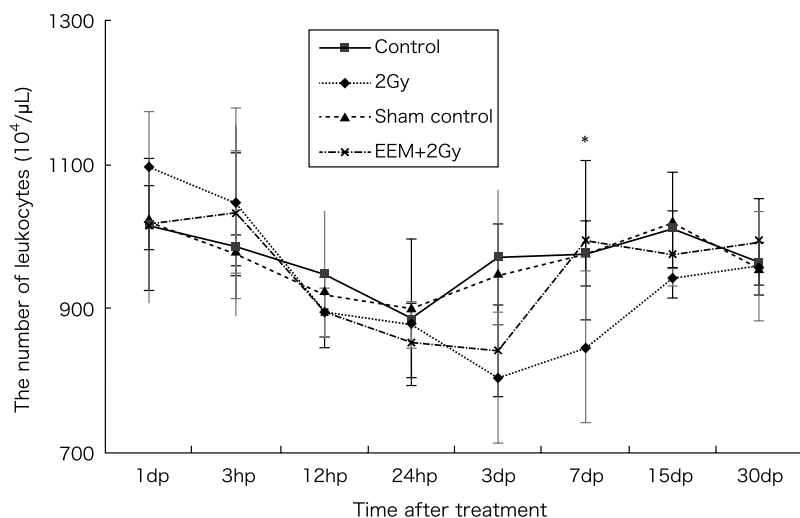


Fig.9. The change in the number of erythrocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice erythrocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

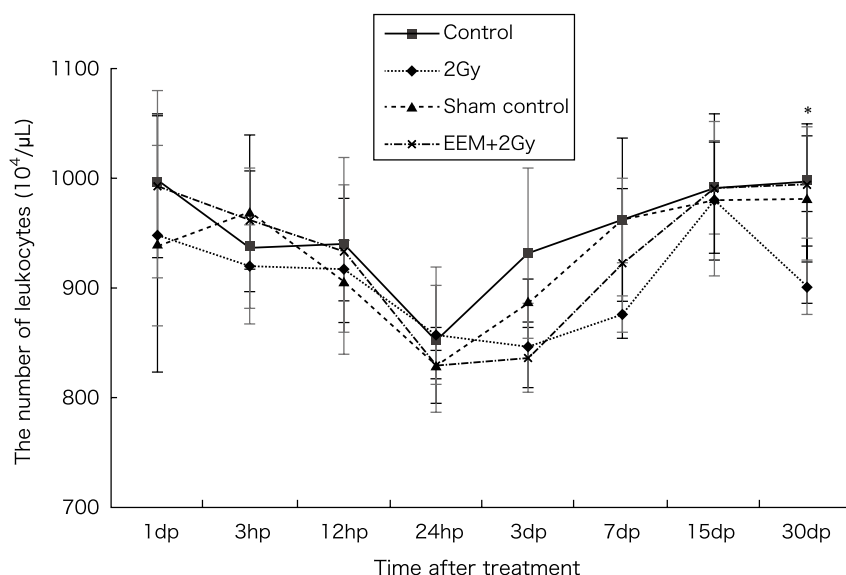


Fig.10. The change in the number of erythrocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice erythrocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 3 時間後において統計学的な有意差が認められたが ($p<0.05$), Female マウスについては統計学的な有意差は認められなかった。

赤血球 (Erythrocytes)

Fig.9 に Male マウスの赤血球数の経時的変化を示す。Fig.10 に Female マウスの赤血球数の経時的変化を示す。赤血球数の経時的変化において、Control 群に比べ Sham Control 群では、Male マウスのおいても、Female マウスにおいても統計学的な有意差は認められなかった。

Control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスにおいては統計学的な有意差は認められなかったが、Female マウスについては放射線照射 3 日後 ($p<0.05$), 7 日後 ($p<0.01$), 30 日後 ($p<0.01$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 3 日後において統計学的な有意差が認められ ($p<0.05$), 同様に Female マウスについても放射線照射 1

日前 ($p<0.05$), 12 時間後 ($p<0.01$), 7 日後 ($p<0.001$), 15 日後 ($p<0.01$), 30 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射 3 日後 ($p<0.05$), 7 日後 ($p<0.05$), 15 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射 3 日後 ($p<0.05$), 7 日後 ($p<0.05$), 30 日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射 7 日後において統計学的な有意差が認められ ($p<0.05$), 同様に Female マウスについても放射線照射 30 日後において統計学的な有意差が認められた ($p<0.01$)。

血小板 (Thrombocytes)

Fig.11 に Male マウスの血小板数の経時的変化を示す。Fig.12 に Female マウスの血小板数の経時的変化を示す。血小板数の経時的変化において、Control 群に比べ Sham Control 群では、

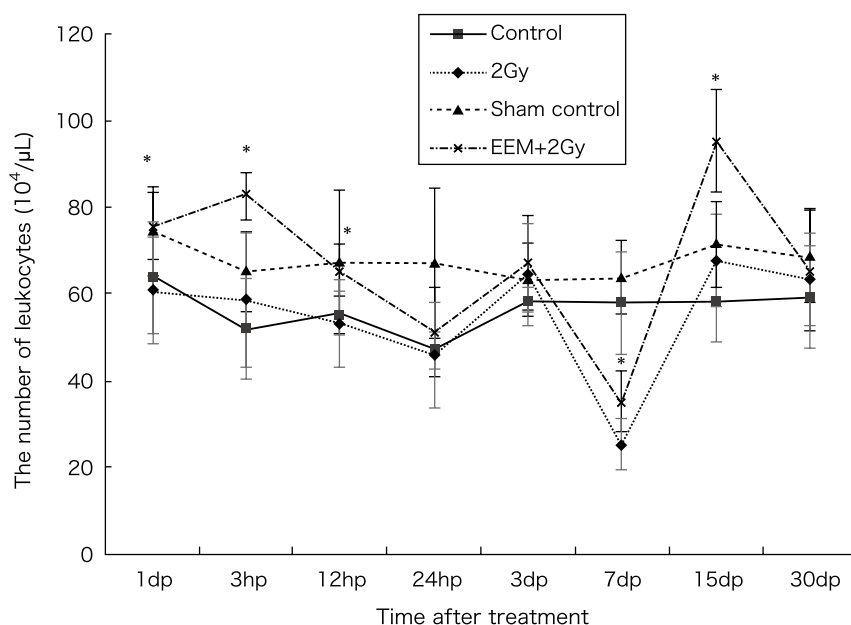


Fig.11. The change in the number of thrombocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice thrombocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

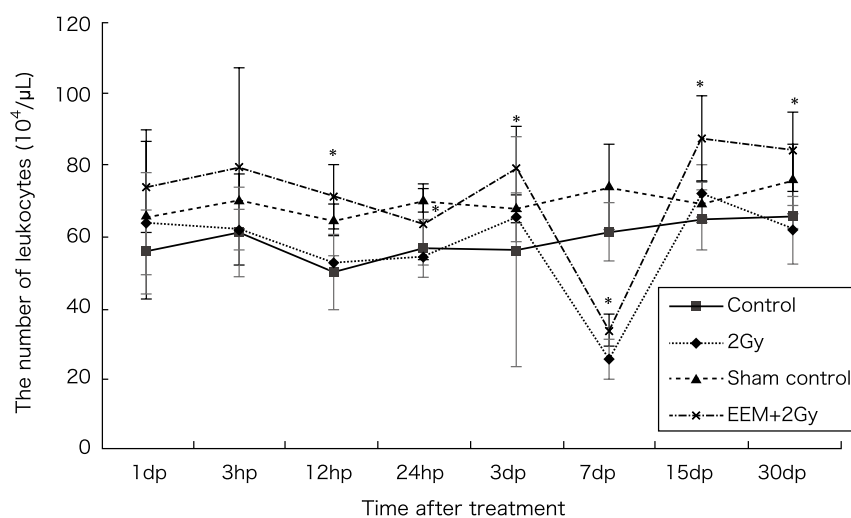


Fig.12. The change in the number of thrombocytes in the blood taken from the tail vein of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 5 female mice thrombocytes. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p < 0.05$ vs 2Gy Group, ** $p < 0.01$ vs 2Gy Group

Male マウスの放射線照射 24 時間後 ($p < 0.05$), 15 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められ, 同様に Female マウスについても放射線照射 12 時間後 ($p < 0.05$), 24 時間後 ($p < 0.01$),

30 日後 ($p < 0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Control 群に比べ, 2.0Gy 放射線単独照射群では, Male マウスの放射線照射 3 時間後 ($p < 0.05$),

7日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射7日後において統計学的な有意差が認められた ($p<0.001$)。

Control 群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射3時間後 ($p<0.01$), 12時間後 ($p<0.05$), 7日後 ($p<0.01$), 15日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射1日前 ($p<0.05$), 12時間後 ($p<0.01$), 7日後 ($p<0.001$), 15日後 ($p<0.01$), 30日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

Sham control 群に比べ、2.0Gy 放射線単独照射群では、Male マウスの放射線照射12時間後 ($p<0.05$), 24時間後 ($p<0.05$), 7日後 ($p<0.001$) において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射3時間後 ($p<0.05$), 12時間後 ($p<0.001$), 24時間後 ($p<0.001$), 7日後 ($p<0.001$), 30日後 ($p<0.05$) において統計学的な有意差が認められた。

2.0Gy 放射線単独照射群に比べ、EEM+2.0Gy 放射線照射群では、Male マウスの放射線照射1日前 ($p<0.05$), 3時間後 ($p<0.01$), 12時間後 ($p<0.05$), 7日 ($p<0.05$), 15日後 ($p<0.01$)

において統計学的な有意差が認められ、同様に Female マウスについても放射線照射12時間後 ($p<0.01$), 24時間後 ($p<0.05$), 3日後 ($p<0.05$), 7日後 ($p<0.05$), 15日後 ($p<0.05$), 30日後 ($p<0.01$) において統計学的な有意差が認められた。

血清中の抗酸化活性 (Antioxidant Activity)

血清中抗酸化活性の測定結果を Fig.13 に示す。

Control 群の抗酸化活性と、各照射群の抗酸化活性の有意差検定を t 検定で行った結果、Control 群と 2.0Gy 放射線単独照射群の抗酸化活性の間に統計学的な有意差が認められた ($p<0.001$)。また、Control 群と EEM+2.0Gy 放射線照射群の抗酸化活性の間にも統計学的な有意差が認められた ($p<0.001$)。さらに、2.0Gy 放射線単独照射群と EEM+2.0Gy 放射線照射群の抗酸化活性の間に統計学的な有意差が認められた ($p<0.05$)。

3. 考察

3-1. 血球細胞レベルにおける考察

白血球は、リンパ球、顆粒球、単球からなる。白血球は免疫に深く関与しており、細菌や

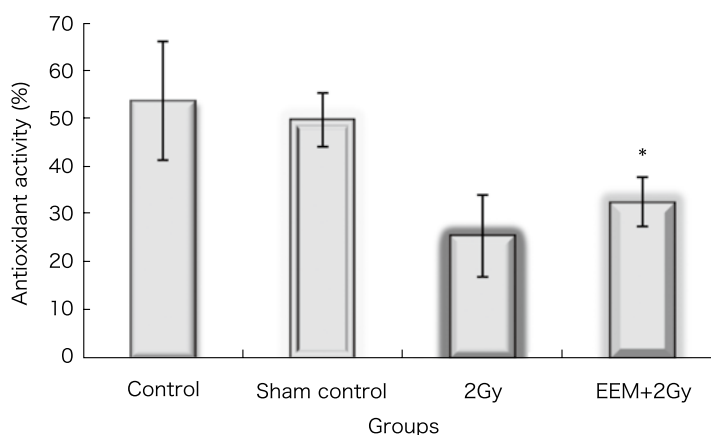


Fig.13. Antioxidant Activity of blood serum taken from the heart of whole body irradiated mice. Each linegram represents the mean value $\pm$ SD for 10 male mice Antioxidant Activity. 2Gy group was detected with statistical significant difference from the EEM plus 2Gy groups by *t*-test. * $p<0.05$ vs 2Gy Group, ** $p<0.01$ vs 2Gy Group

ウイルスなどの外敵の侵入に対する防御機構として重要である。抹消白血球の変動は放射線照射に敏感である¹⁶⁾。特に、マウスでは、放射線感受性の高いリンパ球の比率が高いので白血球数の変動は著明である。本研究では、Male マウス、Female マウスともに 2.0Gy 単独照射群の白血球数よりも EEM+2.0Gy 照射群の白血球数のほうが総じて高いことが認められた。そこで白血球を構成するリンパ球、顆粒球、単球について観察を行った。リンパ球は造血芽細胞 (CFU-blast) を始めとする未分化なものから抹消血にいたるまで放射線感受性が高い。また、リンパ球は哺乳動物細胞の中で最も放射線感受性が高い細胞であり、照射を受けると短時間で間期死を起こすことが特徴である¹⁷⁾。リンパ球固有の特徴として、ほかの血球への放射線作用が、母細胞への障害の反映として出現してくるのに対して、リンパ球は直接放射線によって破壊死滅すると考えられる点である。照射直後からすでに減少が認められ、48 時間までに急激な減少、ついでなだらかな減少曲線を示す¹⁸⁻²⁰⁾。本研究では、Male マウスにおいて 2.0Gy 単独照射群のリンパ球数よりも EEM+2.0Gy 照射群のリンパ球数のほうが総じて高かった。Gu らは担癌マウスにキノコ抽出物を投与して、宿主媒介性の免疫活性作用による抗腫瘍効果を観察した。ここで、リンパ球を活性する因子が EA6 である可能性を示唆している¹⁹⁾。よって、EEM の投与によって免疫賦活作用によりリンパ球数の低下に対する免疫応答 (修復作用) が促進されたものと考えられる。

顆粒球の減少カーブはリンパ球に比べると少し緩やかであり、照射後 3～4 日で最低値となる。回復はリンパ球よりも早く、2～3 週間でほぼ正常値に戻る。また、照射直後 (1 日以内) に一過性の増加が認められることがあるが、これは貯蔵プールからの放出によるためである²¹⁾。本研究においても Male マウス、Female マウスともに照射直後に一過性の顆粒球数の増加が認められた。また、Male マウス、Female マウスともに 2.0Gy 単独照射群の顆粒球数よりも

EEM+2.0Gy 照射群の顆粒球数のほうが総じて高いことが認められた。

単球は白血球の 4～8% を占める。血管外に出て大食細胞 (マクロファージ) に変わるとされており、貪食能があり免疫作用に関係する²²⁻²³⁾。本研究では、Male マウスにおいて 2.0Gy 単独照射群の単球数よりも EEM+2.0Gy 照射群の単球数のほうが総じて高いことが認められた。また、Female マウスの放射線照射 24 時間後から 7 日後において、2.0Gy 単独照射群の単球数よりも EEM+2.0Gy 照射群の単球数のほうが高いことが認められた。ブナシメジをはじめ食用キノコの抗腫瘍作用の主成分である多糖体は、マクロファージを活性化させることが報告されている¹⁾。また、Ikekawa らはブナシメジ含有飼料で飼育したマウスの血漿の抗酸化活性が対照群に比べて上昇していることを示した^{19, 20)}。これらのことから、EEM の投与でマクロファージが活性化され修復が早まることと、抗酸化作用によりフリーラジカルが除去されることによって、顆粒球や単球が損傷されることが緩和されたということが考えられる。

3-2. 血清中の抗酸化活性における考察

放射線を生体に照射すると、生体の大部分を占める水との放射線分解により、 $\text{OH}\cdot$ 、 $\text{H}\cdot$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$ といったフリーラジカルが生じる¹⁾。生体膜の脂質中に局在する高度不飽和脂肪酸は、フリーラジカル作用を受けやすく脂質過酸化連鎖反応を介して過酸化脂質を生成する。過酸化脂質は局所より血液中に流出し血管病変をはじめとする二次的病変の原因となる¹⁸⁾。従って、本研究の個体レベルや血液レベルにおける放射線の影響もフリーラジカルによって誘発されたものと考えられる。本研究では、2.0Gy 放射線単独照射群よりも EEM+2.0Gy 放射線照射群の抗酸化活性が明らかに高くなった。この原因として EEM に含まれる β グルカンの作用が考えられる。具らは EEM の主成分の 1 つである β グルカンの抗酸化作用に着目して、 β グルカン飼料で飼育したマウス血漿の抗酸化活性の上昇

について報告している。また、血漿中の過酸化脂質レベルの低下も認められている²⁴⁾。Guらはグルカンの抗酸化作用をAAPH法によって証明した⁸⁾。EEMにもエノキタケ由来のEA3(β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-グルカン)が含まれており、EA3による抗酸化活性の上昇が考えられる。従ってEEMの投与によって、血液の抗酸化活性が高まり、放射線照射によって生じるフリーラジカルが減少したと考えられる。なお、Control群とSham control群の抗酸化活性には有意差は認められなかったが、Control群のほうが若干高くなった。本来ならば放射線照射していない血液に関しても、EEMを投与したほうの抗酸化活性が高くなるはずである。これはEEMを腹腔内投与することでマウスのストレスが上昇し、血液が酸化したものと考えられる。従って、生理食塩水のみを腹腔内投与して比較する必要があると考えられる。

4. 結論

2.0Gy単独照射群とEEM+2.0Gy照射群の白血球数の間に明らかな差が認められた。特に、Maleマウスの24時間後、7日後、15日後、30日後と、Femaleマウスの24時間後、7日後において統計学的な有意差が認められた。従って、EEMに白血球に対する放射線防護効果が認められた。2.0Gy単独照射群とEEM+2.0Gy照射群のリンパ球数の間に明らかな差が認められた。特に、Maleマウスの15日後において統計学的な有意差が認められた。従って、EEMにリンパ球に対する放射線防護効果が認められ

た。2.0Gy単独照射群とEEM+2.0Gy照射群の顆粒球数の間に明らかな差が認められた。特に、Maleマウスの1日前、24時間後、7日後、15日後、30日後と、Femaleマウスの12時間後、15日後において統計学的な有意差が認められた。従って、EEMに顆粒球に対する放射線防護効果が認められた。2.0Gy単独照射群の単球数よりも、EEM+2.0Gy照射群の単球数のほうが総じて高くなった。特に、Maleマウスの3時間後において統計学的な有意差が認められた。従って、EEMに単球に対する放射線防護効果が認められた。赤血球数は他の血球細胞に比べると、変化は少なく各群間にも大きな差は認められなかった。従って、EEMには赤血球に対する放射線防護効果は認められなかった。2.0Gy単独照射群の単球数よりも、EEM+2.0Gy照射群の単球数のほうが総じて高くなった。

特に、Maleマウスの放射線照射1日前、3時間後、12時間後、7日後、15日後と、Femaleマウスの放射線照射12時間後、24時間後、3日後、7日後、15日後、30日後において統計学的な有意差が認められた。EEMを投与した群において、刺針による血小板数の増加が認められた。従って、EEMには血小板に対する放射線防護効果は認められなかった。2.0Gy単独照射群とEEM+2.0Gy照射群の抗酸化活性の間に統計学的な有意差が認められた ($p<0.05$)。EEM+2.0Gy照射群に抗酸化活性の上昇が認められた。従って、放射線照射により生成したフリーラジカルに対する、EEMのラジカル除去作用の増強が認められた。

参考文献

- Gu YH, Takeo T, Kim HG, Suzuki I, Mori T, Yamamoto Y.: Study of the radioprotective effects of TMG on teratogenic malformations in irradiated mice. *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, **60**: 845-55. 2000.
- Gu YH, Kai M, Kusama T.: The embryonic and fetal effects in ICR mice irradiated in the various stages of the preimplantation period. *Radi. Res.* **147**:735-740. 1997.
- Gu YH, Choi HJ, Yamashita T, Kang KM, Iwasa M, Lee MJ, Lee KH, Kim CH.: Pharmaceutical production of anti-tumor and immune-potentiating *Enterococcus faecalis*-2001 β -glucans: enhanced activity of macrophage and lymphocytes in tumor-implanted mice. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **18** (8): 653-661.2017.
- Gu YH, Fujimiya Y, Itokwa Y, Oshima M, J Choi JS, Miura T, Ishida T.: Tumoricidal effects of beta-glucans: mechanisms include both antioxidant activity plus enhanced systemic and topical immunity. *Nutr Cancer*, **60** (5): 685-691, 2008.
- Gu YH, Takagi Y, Nakamura T, Hasegawa T, Suzuki I, Oshima M, Tawaraya H, Niwano Y.: Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived β -glucan in Mice. *J Med Food*, **8** (2): 154-158, 2005.
- Nakamura T, Itokawa Y, Tajima M, Ukawa Y, Cho KH, Choi JS, Ishida T, Gu YH.: Radioprotective effect of *Lyophyllum decastes* and the effect on immunological functions in irradiated mice. *J Tradit Chi Med*. **27** (1): 70-75. 2007.
- Gu YH, Park SR, Hasegawa T, Koike M.: Antihypertensive effect of *Lyophyllum decastes* Sing in spontaneously hypertensive rats. *Int J Med Mus.*, **3** (1): 103-110. 2001.
- Gu YH, Hasegawa T, Suzuki I, Hayashi I, Ahn KS, Twaraya H.: A study of the radioprotection effect of macroglucan (β -1-3 glucan) on fetuses of ICR mice. *J Ori Med.*, **5** (1): 63-70. 2000.
- Gu YH, Yamasita T, Kang KM.: Subchronic oral dose toxicity study of *Enterococcus faecalis* 2001(EF 2001) in mice. *Toxi Res.*, **34** (1):55-63. 2018.
- Yamashita T, Kato T, Tunekawa M, Gu YH, Wang S, Ma N.: Effect of radiation on the expression of Taurine transporter in the intestine of mouse. *Adv Exp Med Biol.*, **975**: 729-740, 2017.
- Gu YH, Maenaka T, Saito K, Yamashita T, Choi IS, Terai K, Ahn KS.: Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea* (American herb) *in vivo*. *Ori. Pharm. Exp. Med.* **5**: 48-56. 2005.
- Liu J, Edamatsu R, Hamada H, Mori A.: Scavenging effect of Guilingji on free radicals. *Neurosciences*, **16**: 623-630. 1990.
- Kim JH, Park MY, Lee JY, Okuda H, Kim S, Hwang WI.: Antioxidant and antitumor effects of manda. *Biochem. Arch.* **14**: 211-219. 1998.
- Gu YH, Takebe M.: Immunological enhancement effect and radiation protection effect of *Fuscoporia oblique*. *Med. Bio.* **153**: 165-175. 2009.
- Gu YH, Iwasa M, Iwasa H, Kobayashi K, Itokawa Y, Ishida T.: Radiation protection effect for EF 2001 (*Enterococcus faecalis* 2001). *Med. Bio.* **151**: 289-295. 2007.
- Gu YH, Itokawa Y, Maenaka T, Yamashita T, Oshima M, Nakamura T, Young-nam Kang, Hasegawa T, Suzuki I, Choi IS, Tano K, shida T.: The Blood Estradiol-17 β , Testosterone and Progesterone of Male and Female Mice Change by *Lepidium meyenii* Walp (MAX-180) and Muira Puama. *Med. Bio.*, **150** (4): 159-168, 2006.
- Kang YN, Maenaka T, Itokawa Y, Yamashita T, Nakamura T, Oshima M, Hasegawa T, Suzuki I, Tano K, Ishida T, Gu YH.: Embryonic Death Effects of Hyperthermia Induced by RF (Radiofrequency) Waves. *Med. Bio.*, **150** (3): 97-103, 2006.
- Gu YH, Yamashita T, Maenaka T, Itokawa Y, Nakamura T, Choi IS, Tano K, Ryu MS, Hasegawa T, Oshima M.: Anti-tumor Immunity and Radioprotection effect of *Fuscoporia oblique*.; *Med. Bio.*, **149** (9): 304-318, 2005.
- Choi IS, Gu YH.: Anti-cancer and Radioprotection Effects of Hatakeshimeji (*Lyophyllum decastes*).; *Med. Bio.*, **149** (7): 256-262, 2005.
- Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y. The blood estradiol-17 β , Testosterone and progesterone of male and female mice change by *Lepidium meyenii* Walp (MAX-180); *Med. Bio.*, **148** (1): 14-73, 2004.
- Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y.: Immunological enhancement effect in PASSION FRUIT (MARACUJYA); *Med. Bio.*, **148** (1): 20-25, 2004.
- 具 然和, 山下剛範, 鈴木郁功, 大嶋正己: *Propolis* と *Phellinus Linteus* の放射線防護効果に関する研究; *Med. Bio*, **146** (6): 111-116, 2003.
- 具 然和, 山下剛範, 大嶋正己: *Propolis* と *Ganoderma* による抗がん効果と放射線防護効果に関する研究; *Med. Bio*, **146** (6): 105-110, 2003.
- 具 然和, 大嶋正己, 朴 相来, 鈴木郁功: ミラクルフード投与に対する免疫増強効果と放射線防護効果の研究; *Med. Bio*, **146** (4): 65-70, 2003.

Immunoenhancement and radioprotection effect by Extracts of Edible Mushrooms

Correspondence: Yeunhwa Gu

Chairperson International Affairs Department of Radiological Science,
Graduate School of Health Science, Faculty of Health Science Junshin Gakuen University
1-1-1 Chikushigaoka, Minami-ku, Fukuoka 815-8510 Japan

TEL : +81-92-554-1255

FAX : +81-92-552-2707

e-mail : gu.y@junshin-u.ac.jp

Key Words: radiation protective agen, immunostimulation, lymphocyte, antioxidative effec

Abstract

With the diversification of radiation use, there is a concern about the influence of radiation on the human. In this study, *Extracts of Edible Mushrooms (EEM)* which is a hot water extract from *Bunashimeji* and *Enokitake* were used as a protective agent against side effects during radiotherapy. Previous studies have reported that *EEM* has antitumor and antioxidant effects. Therefore, in this study, we investigated the effects of radiation on blood cells and antioxidant activity using *EEM* and aimed to contribute basic data to radiation protection agents.

At the blood cell level, 7-week-old ICR mice were used to intraperitoneally administer *EEM* to mice at a concentration of 25µg/0.5mL/body weight (kg). The administration period was 2 weeks or more at every other day interval. The experiment group was Control group, Sham control group administered only *EEM*, 2.0Gy radiation alone irradiation group, *EEM* + 2.0Gy irradiation group. Bleeding was performed 1 day, 3 hours, 24 hours, 3 days, 7 days, 15 days, and 30 days after the radiation irradiation.

Measurement items were white blood cell count, lymphocyte count, granulocyte count, monocyte count, red blood cell count, and platelet count.

For antioxidant activity, 7-week-old ICR mice were used to intraperitoneally administer *EEM* to mice at a concentration of 25µg/0.5mL/body weight (kg). The administration period was 2 weeks or more at every other day interval.

The experiment group was Control group, Sham control group administered only *EEM*, 2.0Gy radiation alone irradiation group, *EEM* + 2.0Gy irradiation group. Blood was drawn from the heart immediately after irradiation, and serum was obtained by centrifugation. The chemiluminescence intensity was measured by adding a luminol reagent to the serum and the antioxidant activity was evaluated.

Regarding the blood cell level, the white blood cell count was statistically significant between 24 hours, 7 days, 15 days, and 30 days after irradiation of male mice between 2.0Gy radiation alone group and *EEM* + 2.0Gy radiation group. A significant difference was observed, and a statistically significant difference was observed 24 hours and 7 days after irradiation of Female mice. Regarding the number of lymphocytes, a statistically significant difference was observed between irradiation group of 2.0Gy radiation alone and irradiation group of *EEM* + 2.0Gy 15 days after irradiation of Male mice. Regarding the number of granulocytes, statistically significant differences between 1 day before, 24 hours after, 7 days after, 15 days after, and 30 days after irradiation of Male mice between 2.0 Gy radiation alone irradiation group and *EEM* + 2.0Gy radiation irradiation group, And statistically significant difference was observed between Female mice 12 and 15 days after

irradiation. Regarding the number of monocytes, a statistically significant difference was observed between irradiation of 2.0Gy radiation alone and irradiation group of *EEM* + 2.0Gy for 3 hours after irradiation of male mice.

Regarding the number of monocytes, a statistically significant difference was observed between irradiation of 2.0Gy radiation alone and irradiation group of *EEM* + 2.0Gy for 3 hours after irradiation of male mice. Regarding the antioxidant activity in serum, a statistically significant difference was observed between 2.0Gy radiation alone group and *EEM* + 2.0Gy radiation group ($p < 0.05$). In this study, radiation protection effect against leukocytes, lymphocytes, granulocytes, monocytes was observed. This may be due to inhibition of cell damage due to antioxidant effect of *EEM* and increase in blood cell count due to immunostimulatory action. Also, radical scavenging effect on free radicals by irradiation was recognized. This is thought to be due to the antioxidant action of β -glucan, which is the main component of *EEM*. Therefore, this study confirmed the radiation protection effect by *EEM*.

連絡先：具 然和

純真学園大学保健医療学部放射線技術科学科

〒 815-8510 福岡県福岡市南区筑紫丘 1 丁目 1-1

TEL :092-554-1255

e-mail : gu.y@junshin-u.ac.jp

ニジマス用飼料の炭水化物源－ 2

酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi)

Key Words：ニジマス用飼料 炭水化物源 小麦粉 中白糠 米 澱粉 粒径 人工消化率 消化吸収率

前報¹⁾でジアスターゼによる炭水化物の人工消化率は小麦粉と米粉で大きな違いが無いのに中白糠（酒糠）は著しく値が高いことや、実際にニジマス稚魚を用いて炭水化物の消化吸収率を測定すると小麦粉より米関連物（米粉、脱脂米糠、中白糠）の方が値が高いことを明らかにした。この結果より、ジアスターゼによる人工消化率は供試物によっては真の消化吸収率と著しく値が違う可能性があるので、人工消化率は炭水化物源のスクリーニングの手段に留めておくべきであることを指摘した。

また、飼料効率やタンパク質効率などの飼育成績は実際に魚を用いて調べた飼料炭水化物の吸収量との間に強い正の相関が認められることや、中白糠以外の米関連物や小麦粉の人工消化率はそれぞれの炭水化物量との間に負の相関が認められること等も報告した。

今回の試験は前報の結果の再現性を確認すると共に、ジアスターゼによる人工消化率や魚による消化吸収率に影響を及ぼす要因を明らかにすることを目的として行った。

試験-1で11種類の小麦粉と11種類の米関連物（米粉碎物 8、脱脂米糠 1、中白糠 2）の炭水化物量とジアスターゼによる人工消化率の関係を調べた。試験-2で炭水化物以外の成分の影響を出来るだけ除去するためにトーモロ

コシ、小麦、馬鈴薯および米の澱粉を用いて人工消化率を調べ、その値とニジマス稚魚による炭水化物の消化吸収率を比較し、澱粉の種類の違いが人工消化率や消化吸収率に及ぼす影響を調べた。試験-3と4で供試物の粒径と人工消化率の関係を調べ、試験-5で色々な中白糠の粒度分布を測定し、平均粒径と前報で説明したニジマス稚魚の飼育成績（飼料効率、タンパク質効率）との相関を調べた。

試験-1. 小麦粉と米関連物の人工消化率

前報で小麦粉と米関連物（中白糠を除く）では炭水化物量と人工消化率の間に負の相関があることと、同じ炭水化物量で比較すると小麦粉より米関連物の方が人工消化率が高いことを説明した。本試験は小麦粉、米関連物共に試料数を増やして炭水化物量と人工消化率の関係を調べ、前報の結果の再現性を明らかにすることを目的として行った。

1. 材料と方法

1-1. 供試原料

“ふすま”から食用小麦粉まで様々な性状の小麦粉11種類と米関連物3種類（脱脂米糠 1、

中白糠 2) のジアスターゼによる人工消化率を調べ、次いで8種類の米(うるち米 7, もち米 1)の人工消化率を調べた。小麦粉のⅠ, Ⅱ, Ⅲの記号は前報で用いた小麦粉Ⅰ, Ⅱ, Ⅲと同じ物である。また、脱脂米糠と中白糠も前報と同じ物を用いた。うるち米のA, Bはコシヒカリで産地が違う物, C, Dはササニシキでこれも産地が違う物, E, Fは詳細不明の内地米, Gは特選標準米である。もち米は詳細不明の物である。

1-2. 炭水化物定量法

総炭水化物量

総炭水化物量は塩酸分解法で測定した。手順は以下の通りである。試料 500mg を精秤し、大型試験管に入れ、4% 塩酸 60mL を添加する。浮蓋をして 90 分間沸騰浴。水冷した後濾過する。濾液 5-20mL (糖濃度により変える) を 100mL 三角フラスコに 1 試料につき 2 本ずつ取る。ブランクには精製水を加える。精製水で 20mL に定容。A 液 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 30g, ロッセル塩 90g, $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 200g, KIO_3 3.5g) を 1L に定容。調整法は、まずロッセル塩と $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ を約 600mL の精製水に溶解する。 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を 120-130mL の精製水に溶解。 KIO_3 を約 30mL の精製水に溶解。 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 液にロッセル塩 + $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 液を徐々に加え、最後に KIO_3 液を加える。放冷後精製水で 1L に定容する。) 10mL と消泡油 (原液を 5-10 倍に希釈) 2-3 滴添加し、電気コンロ上で 3 分間煮沸 (沸騰し始めたらコンロの目盛

を小さくする)。10-15 分間水冷し、B 液 (蓚酸カリウム 90g と KI 40g を精製水で 1L に定容) 10mL と C 液 (2N 硫酸) 10mL を泡立てないように添加する。1% 澱粉溶液を指示薬として 0.1N チオ硫酸ナトリウム液で滴定する。下記の式より還元糖の量を求める。

$$\text{還元糖}(\%) = [(V_1 - V_2) \times F \times 0.0029 \times 100 / S] \times 100 / W$$

V_1 : ブランクの滴定値 (mL), V_2 : 試料の滴定値 (mL), F : 0.1N チオ硫酸ナトリウムの力価, S : 測定に使用した試料溶液量 (mL), W : 供試試料量 (g)

ジアスターゼによる人工消化率

試料約 1g を精秤する。水 80mL とジアスターゼの 5% 溶液 5mL (ジアスターゼ 250mg 相当) を加え、37℃ で 16-17 時間穏かに攪拌しながら炭水化物を消化する。生じた還元糖を上記の Somogyi 氏変法で測定する。下記の式で人工消化率を求める。

人工消化率 (%) = ジアスターゼ処理によって生じた還元糖量 $\times 100$ / 塩酸分解処理によって生じた還元糖量。

測定サンプルの調製

小麦粉, 脱脂米糠, 中白糠はそのまま測定に用いた。米は一定量の米を電動のコーヒーマルで一定時間粉碎して用いた。

2. 結果

表 1 と図 1 に示すように小麦粉には炭水化

表 1 小麦粉と米の炭水化物量と人工消化率

小麦粉	炭水化物量 (%)	人工消化率 (%)	米	炭水化物量 (%)	人工消化率 (%)
A: ふすま	43.5	61.8	脱脂米糠	35.3	83.8
B	40.4	69.6	中白糠		
C: Ⅰ	49.5	74.4	A	52.7	77.9
D	49.8	71.5	B	63.4	85.4
E: Ⅱ	59.4	55.9			
F	64.0	55.3			
G (強力粉)	68.1	50.9			
H (強力粉)	69.2	56.5			
I (強力粉)	71.5	52.7			
J: Ⅲ (薄力粉)	64.7	52.8			
K (薄力粉)	74.9	51.8			

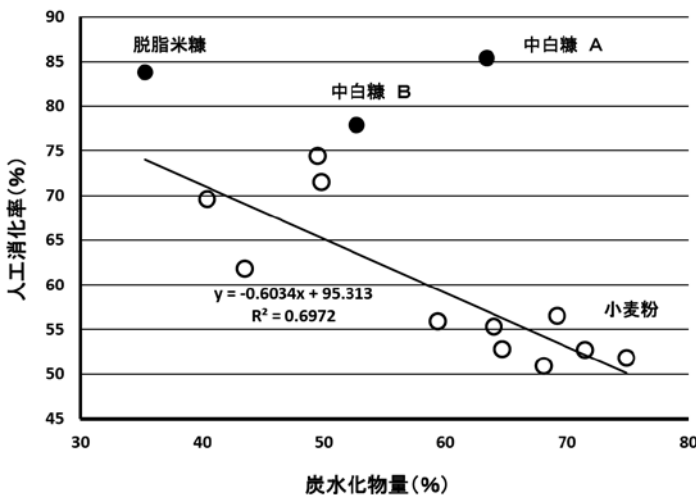


図1 小麦粉と米関連物の炭水化物量と人工消化率

表2 米の炭水化物量と人工消化率

米	炭水化物量 (%)	人工消化率 (%)
うるち米		
A: コシヒカリ	74.8	60.0
B: コシヒカリ	74.8	59.4
C: ササニシキ	72.7	53.9
D: ササニシキ	71.9	60.0
E: 内地米	70.3	75.8
F: 内地米	70.0	61.3
G: 特選標準米	72.6	66.0
もち米		
A	71.3	55.2

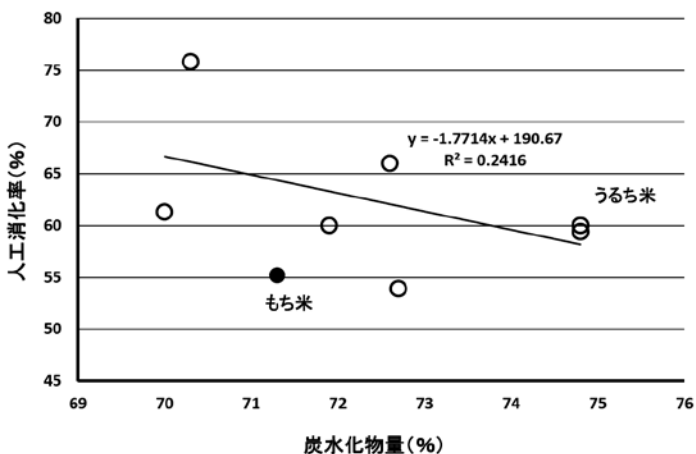


図2 米の炭水化物量と人工消化率

物量と人工消化率の間に負の相関が認められ、前報の再現性が確認出来た。但し、今回は11種類（前報では3種類）の小麦粉を用いたためバラツキが大きく、回帰直線の傾きや相関係数は前報と可也違った値を示した。

脱脂米糠と中白糠の炭水化物量に対する人工消化率は明らかに小麦粉より高く、違う部位に位置していた。これも前報と同じ結果で、再現性が確認出来た。

表2と図2に米の炭水化物量と人工消化率の関係を示す。米は小麦粉より炭水化物量が多い。

米の種類（うるち米ともち米、うるち米では品種の違い）によって炭水化物量に大きな違いは無いが、人工消化率には可也の違いが認められた。前報同様もち米はうるち米より人工消化率が低い傾向が認められた。但し、もち米は供試物が1種類のみなので断言は出来ない。

米を電動コーヒーマルで粉碎した米粉砕物の人工消化率は小麦粉と大差無く、この結果も前報と同じであった。また、米粉砕物の炭水化物量と人工消化率の相関は、前報で脱脂米糠、うるち米、もち米で求めた相関より遥かに弱い相関しか示さなかった。但し、前報とは測定サンプルの調製法も違い、粒度分布なども調べていない。よって、この結果のみで、米では炭水化物量と人工消化率の相関が弱いとは言いきれない。さらに詳細な検討を要する。

小麦粉、脱脂米糠、中白糠および米粉砕物の炭水化物量と人工消化率の関係を纏めて示したのが図3である。小麦粉は米関連物より明らかに人工消化率が低かった。米関連物では、脱脂米糠と中白糠の人工消化率が高

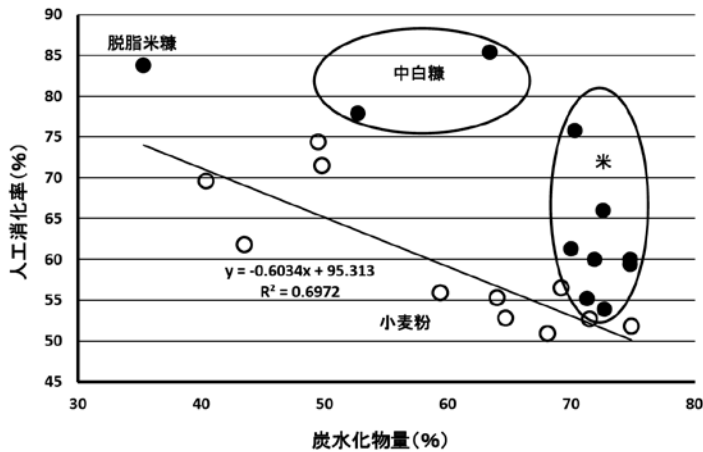


図3 小麦粉，脱脂米糠，中白糠，米粉砕物の炭水化物量と人工消化率

表3 供試米の一般成分

	水分	タンパク質	灰分	炭水化物
うるち米				
A: コシヒカリ	14.8	7.3	0.4	74.8
B: コシヒカリ	15.3	6.9	0.4	74.8
C: ササニシキ	15.4	6.8	0.5	72.7
D: ササニシキ	15.1	6.8	0.5	71.9
E: 内地米	15.0	6.9	0.5	70.3
F: 内地米	15.2	7.2	0.5	70.0
G: 特選標準米	14.7	7.1	0.5	72.6
もち米				
A	15.3	7.6	0.4	71.3

単位：%

てニジマス稚魚で消化吸収率を測定すると、飼料タンパク質の消化吸収率は小麦粉区と米粉砕物区で殆ど違いが無かったのに、炭水化物の消化吸収率は小麦粉区の方が著しく低い値を示した。この結果は小麦と米で澱粉の性状に何らかの違いがあり、それが人工消化率や消化吸収率に影響を及ぼしている可能性があることを示している。炭水化物の消化は消化酵素が澱粉に作用することによって起こることを考えると、澱粉粒の粒径が小さく

て表面積が大きい程消化作用を受け易く、人工消化率も消化吸収率も高くなるのではないと思われる。

表3に示す様に今回試験に用いた米の一般成分組成に殆ど違いは認められなかったもので、組織学的な構造に大きな違いがあるとは考え難い。組織学的な構造や澱粉の性状以外にも人工消化率に影響を及ぼす要因があるのであろう。例えば、供試原料の粒度分布などが関係していることは十分考えられる。

く、米粉砕物は総じて低かった。また、米粉砕物の炭水化物量は狭い範囲にあるのに人工消化率には大きなバラツキがあった。

何故この様な結果になるのであろう。幾つかの理由が推定出来る。小麦粉の澱粉はタンパク質の様なジアスターゼで消化出来ない成分でキチンと包まれていて、米の澱粉はこのコーティングの程度が緩いのではないか。もしこの様な構造的な違いがあるのであれば、小麦の澱粉にはジアスターゼが接触・反応し難く、米の澱粉にはジアスターゼが容易に接触・反応出来る事になり、当然小麦粉と米の間で人工消化率に違いが出てくるであろう。

前報で説明した様に、魚粉 66%，炭水化物源 30%，ビタミン・ミネラル混合 4%，酸化クロム 外割 0.1%より成る試験飼料を用い

3. 要約

- ・小麦粉では炭水化物量とジアスターゼによる人工消化率の間に負の相関が認められ、前報の再現性が確認出来た。
- ・小麦粉は米関連物（脱脂米糠，中白糠および米粉砕物）より炭水化物量に対する人工消化率が低い。
- ・米関連物では脱脂米糠と中白糠の人工消化率が高く、米粉砕物は総じて低い。
- ・米粉砕物の炭水化物量は狭い範囲に集中しているのに、人工消化率には可也のバラツキがある。
- ・上記の様な結果が生じる原因として、原料の組織学的な構造の違い、原料の粒度分布の違い、澱粉性状の違いなどが考えられる。

試験 -2. 澱粉性状の違い

試験 -1 で小麦粉と米関連物のジアスターゼによる人工消化率や魚による消化吸収率に大きな違いが生じる原因として、原料の組織学的な構造の違いや澱粉性状の違いなどが考えられた。よって、試験 -2 では原料の組織学的な構造の違いの影響を取り除くために単離された澱粉を用い、澱粉性状の違いが人工消化率と消化吸収率に及ぼす影響を調べた。

1. 材料と方法

1-1. 供試澱粉

市販のトーモロコシ、小麦、馬鈴薯および米の澱粉を用いた。トーモロコシ、小麦、馬鈴薯の澱粉は α 型と β 型の両者を、米の澱粉は β 型のみを用いた。

1-2. 人工消化率

試験 -1 で説明した塩酸分解法によって生じた還元糖量とジアスターゼ処理によって生じた還元糖量の比から人工消化率を計算した。

1-3. 消化吸収率

魚粉 66%，澱粉 30%，ビタミン・ミネラル混合 4%，酸化クロム 外割 0.1% より成る消化吸収率測定用飼料を調製し、ニジマス稚魚を用いて消化吸収率を測定した。飼料の調製は以下の手順で行った。原料を混合・粉碎し、加水してミートチョッパーでヌードル状に押し出し成形する。棚式乾燥機で低温送風乾燥した後破碎してクランブルにする。篩を用いて魚のサイズに合った大きさの飼料のみを集め、試験飼料とした。

採糞は以下の条件で行った。60L 容の角型透明プラスチック水槽の側面を黒色ビニールで覆った水槽に平均体重約 1.5g のニジマス稚魚を 60 尾収容し、水温 14-16℃ で環境に慣れるまで一週間ほど市販飼料で予備飼育す

る。その後 3 日間試験飼料を投与した後、4 日目から 5 日間連続して排泄された糞をサイホンで回収した。給餌後、水槽底の残餌や夜間に排泄されていた古い糞をサイホンで除去し、消化吸収率測定用の糞と混じらないように注意した。糞は 5 日分を合わせて分析試料とした。飼料と糞中のクロム量は古川ら²⁾の湿式定量法で測定した。飼料中のクロム量に対する乾物と炭水化物量、糞中のクロム量に対する乾物と炭水化物量から、飼料全体と炭水化物の見かけの消化吸収率³⁾を求めた。

2. 結果

2-1. 人工消化率

表 4 と図 4 に各澱粉の炭水化物量と人工消化率の関係を示す。当然のことながら、何れの

表 4 各種澱粉の炭水化物量と人工消化率

澱粉	炭水化物量 (%)	人工消化率 (%)
トーモロコシ		
α 澱粉	86.3	89.6
β 澱粉	67.5	46.6
小麦粉		
α 澱粉	85.2	85.2
β 澱粉	79.1	34.8
馬鈴薯		
α 澱粉	83.3	99.6
β 澱粉	78.6	22.6
米		
β 澱粉	89.3	53.4

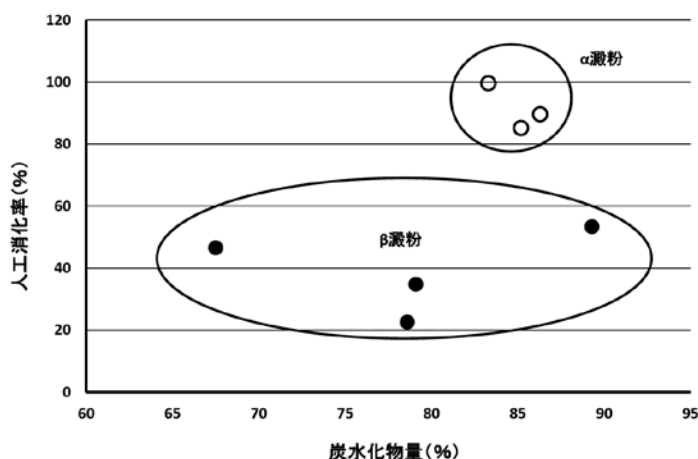


図 4 各種澱粉の炭水化物量と人工消化率

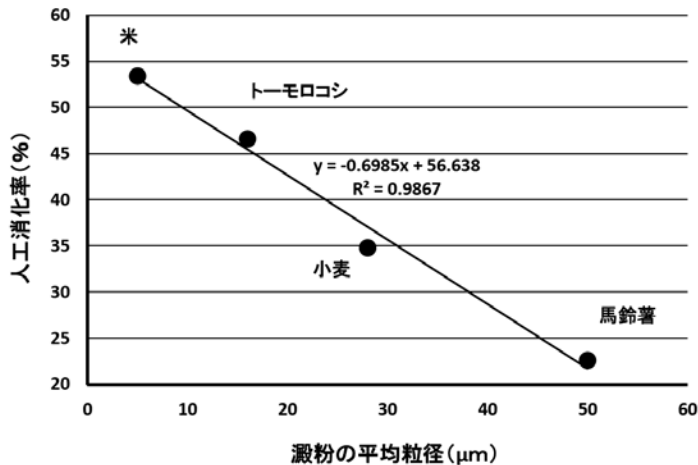


図5 澱粉の平均粒径と人工消化率

澱粉もα澱粉の方が人工消化率が高く、原料の違いによる差は小さかった。α化によって澱粉粒を包む表面膜が壊れ、結晶構造をとっている澱粉分子の隙間に水分が入り込むことでその構造が緩み、分岐した各枝が酵素液中に広がることによって消化酵素が直接作用出来るようになるので、この様な結果を示すのであろう。α澱粉三者を比較すると、人工消化率が高い方から馬鈴薯>トーマロコシ≧小麦であった。この違いは澱粉分子内のα-1,6結合による分岐数の違いによるのではないと思われる。一方、β澱粉の人工消化率はα澱粉より可也低く、原料間の違いもα澱粉より大きかった。β澱粉の人工消化率は米≧トーマロコシ>小麦>馬鈴薯の順に大きかった。

市販されている澱粉では米澱粉の粒径が最も小さく、馬鈴薯澱粉の粒径が最も大きいことは良く知られている。また、トーマロコシと小麦の澱粉はその中間の大きさであることと、小麦澱粉では大型と小型の澱粉が混在しているので、製品によるバラツキが大きいことも報告されている。

図5にそれぞれの澱粉の平均粒径と人工消化率の関係を示す。

両者の間には強い負の相関があり、β澱粉では澱粉粒子の粒径が人工消化率に影響を及ぼしていることが明らかである。単位量の澱粉あたりに消化酵素が作用出来る表面積の問題であろう。

2-2. 消化吸収率

ニジマス稚魚を用いて測定した消化吸収率の結果を表5に、炭水化物量×人工消化率から求めた可消化炭水化物量と飼料全体の消化吸収率の関係を図6に示す。α澱粉、β澱粉共に可消化炭水化物量と全体の消化吸収率

の間には負の相関が認められるが、α澱粉の方がβ澱粉より消化吸収され易いので、飼料全体の消化吸収率も高い値を示していた。α澱粉

表5 試験飼料の消化吸収率

澱粉	全体 (%)	炭水化物 (%)
トーマロコシ		
α澱粉	89.5	95.7
β澱粉	75.7	54.5
小麦粉		
α澱粉	90.1	96.5
β澱粉	78.7	83.8
馬鈴薯		
α澱粉	83.0	88.5
β澱粉	83.9	76.0
米		
β澱粉	74.5	61.3

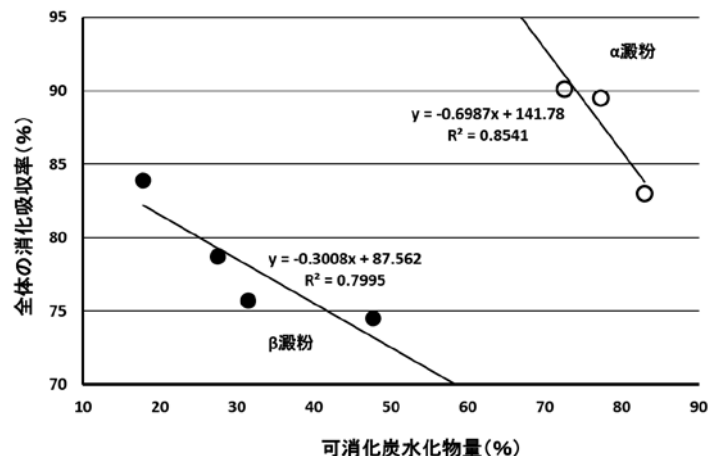


図6 各種澱粉の可消化炭水化物量と全体の消化吸収率

表6 各種澱粉の炭水化物量，人工消化率，可消化炭水化物量，消化吸収率

澱粉	炭水化物（％）	人工消化率（％）	可消化炭水化物量（％）	消化吸収率（％）
トーマロコシ				
α 澱粉	86.3	89.6	77.3	95.7
β 澱粉	67.5	46.6	31.5	54.5
小麦粉				
α 澱粉	85.2	85.2	72.6	96.5
β 澱粉	79.1	34.8	27.5	83.8
馬鈴薯				
α 澱粉	83.3	99.6	83.0	88.5
β 澱粉	78.6	22.6	17.8	76.0
米				
β 澱粉	89.3	53.4	47.7	61.3

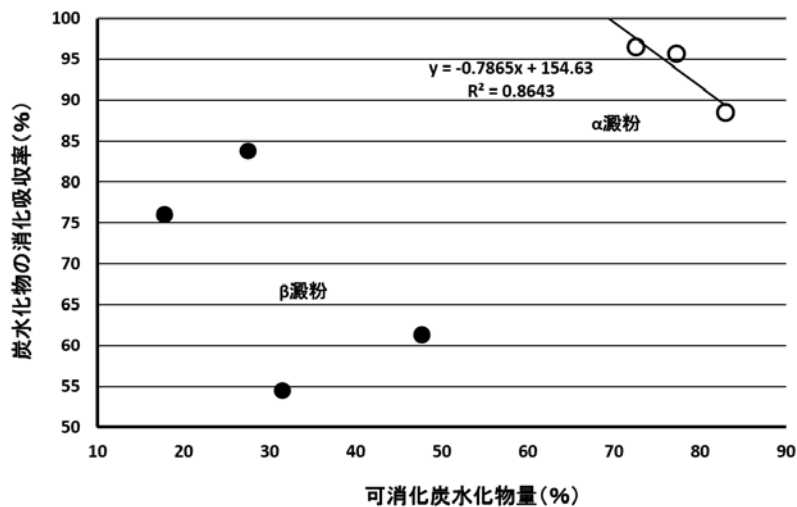


図7 各種澱粉の可消化炭水化物量と炭水化物の消化吸収率

間の比較では，トーマロコシと小麦は略同等の消化吸収率であったが，馬鈴薯はやや低い値を示した。この結果は人工消化率とは全く逆の結果であった。β 澱粉では馬鈴薯が最も高く，トーマロコシ，小麦，米は略等しい消化吸収率を示していた。α 澱粉，β 澱粉の何れにおいても澱粉の種類の違いが飼料全体の消化吸収率に及ぼす影響はそれ程大きなものではなかった。

単離した澱粉での試験であるので，可消化炭水化物量が少ない飼料では不消化性の炭水化物が多く，全体の消化吸収率が低くなるはずであるのに何故この様な結果になるのであろう。不消化の炭水化物が食物繊維として作用し，飼料の消化管内通過速度を遅くして炭水化物以外の成分の消化吸収率を高くしたり，腸内細菌の

排泄量を多くしたりする様なことがあるのであろうか。今後原因の解明が必要である。

可消化炭水化物量とニジマス稚魚による飼料炭水化物の消化吸収率との関係を表6と図7に示す。α 澱粉の方が可消化炭水化物量が多いものの消化吸収もされ易いので，β 澱粉より飼料炭水化物の消化吸収率は高かった。α 澱粉，β 澱粉共に可消化炭水化物量が多くなるに従って消化吸収率が低くなる傾向は認められたものの，β 澱粉ではバラツキが大きかった。可消化炭水化物量が多い物ほど炭水化物の消化吸収率が低いということは，吸収されなかった可消化炭水化物の量が多いということである。飼料全体の消化吸収率は不消化炭水化物量と可消化炭水化物のうち吸収されなかった炭水化物の量の

合計によって影響を受ける。よって、不消化炭水化物量に差が無ければ、吸収されなかった可消化炭水化物量が多い程飼料全体の消化吸収率は低くなるはずである。

表6に示す炭水化物量×消化吸収率から求めた炭水化物の消化吸収量と飼料全体の消化吸収率の関係を表7と図8に示す。消化吸収された炭水化物量が多い程飼料全体の消化吸収率が高く、両者の間には正の相関が認められた。β澱粉でもこの傾向は認められたものの、澱粉の種類によってバラツキが大きかった。

前々報⁴⁾でアユ用飼料への馬鈴薯β澱粉の30%添加は、飼料タンパク質の魚体への蓄積率を低下させることを確認しているので、β澱粉の多量添加が飼料タンパク質の消化吸収率に影響を及ぼしていることが考えられる。ニジマスはアユより炭水化物の利用能が低いので、より影響が強いのではないと思われる。

以上の結果から、ジアスターゼによる人工消化率を基にした可消化炭水化物量ではなく、実際に魚を用いて測定した炭水化物の消化吸収量を基にして判断しないと思わぬ間違いを起こす可能性があることが分かった。ジアスターゼによる人工消化率はあくまでも原料のスクリーニングの手段に留めておくべきであることが再確認出来た。

3. 要約

- ・α澱粉の人工消化率はβ澱粉より高く、原料間の違いは小さかった。一方、β澱粉の人工消化率は低く、原料間の違いが大きかった。
- ・β澱粉の平均粒径と人工消化率の間には強い負の相関があり、β澱粉の人工消化率は澱粉の粒径によって規定されていることが分

表7 炭水化物の消化吸収量と飼料全体の消化吸収率

	消化吸収量 (%)	飼料全体の消化吸収率 (%)
トーマロコシ		
α澱粉	82.6	89.5
β澱粉	36.8	75.7
小麦粉		
α澱粉	82.2	90.1
β澱粉	66.3	78.7
馬鈴薯		
α澱粉	73.7	83.0
β澱粉	59.7	83.9
米		
β澱粉	54.7	74.5

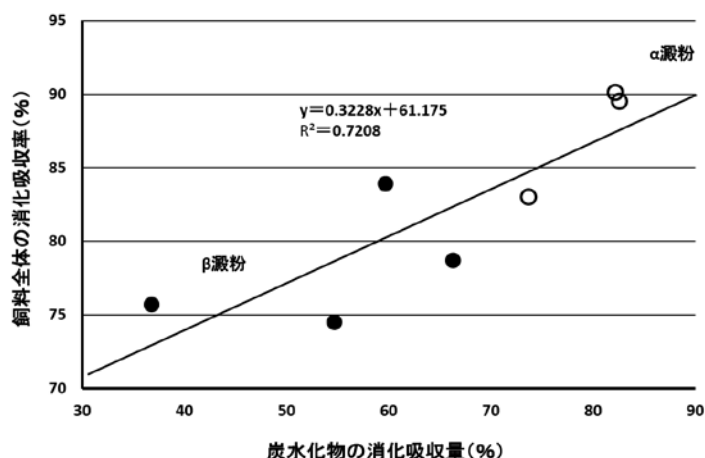


図8 炭水化物の消化吸収量と飼料全体の消化吸収率

かった。

- ・α澱粉の消化吸収率は高かった。
- ・消化吸収された炭水化物量が多い程飼料全体の消化吸収率が高く、両者の間には正の相関が認められた。

試験-3. 粒径と人工消化率

試験-2においてβ澱粉の人工消化率は澱粉の平均粒径によって強く影響を受けることが分かった。試験-1で用いた米粉砕物の粒径は脱脂米糠や中白糠より大きかったので、これが米粉砕物の人工消化率が低かったことの原因の一つではないかと思われた。よって、試験-3で同じ原料でも粒径が違えば人工消化率がどのように変化するかを調べた。

1. 材料と方法

これまでの試験で米の中では最も人工消化率が低かったもち米を用いて試験した。一定量のもち米を電動のコーヒーミルで一定時間粉碎した。従来はこの状態で人工消化率の測定に用いていたが、本試験ではさらに高速粉碎機で微粉化した。微粉碎したもち米50gを分析篩に入れ、篩振盪機で15分間振盪し、粒度分布を測定した。なお、用いた分析篩は目開き420、297、177、125および74 μm の5種類であった。振盪後それぞれの篩上にあるもち米の量を測定して組成比を求めた。そのうち粒径が420-297 μm 、177-125 μm および74 μm 以下の3種類の粒径の異なるもち米粉砕物を人工消化率測定用サンプルとして用いた。それぞれのサン

プルの平均粒径は359 μm 、151 μm および74 μm である。なお、74 μm 以下の澱粉の真の平均粒径は分からないが、100 μm 以下の微粉になると粒径は大きい方に偏っているので、74 μm を平均粒径とした。

塩酸分解法で総炭水化物量、ジアスターゼ処理によって人工消化率を求めた。

2. 結果

表8に結果を示す。粒径の違いによる炭水化物量の違いは小さいが、最も粒径が小さい画分の炭水化物量がやや少ない傾向を示した。米粒の外側の炭水化物が少ない部分の方が微粉になり易いのかも知れない。人工消化率は粒径が小さい画分ほど高い値を示した。前述した様に従来米粉砕物の人工消化率は電動コーヒーミルで粉碎しただけの物（厳密な粉碎条件を決めて行っていた訳ではなく、感覚的な部分が多かった）で測定していたので、各サンプルの粒径が大きく違っていた可能性が高く、それが試験-1の様に同じ米なのにサンプルによって人工

表8 原料の粒径と人工消化率

粒径 (μm)	組成比 (%)	炭水化物 (%)	人工消化率 (%)
>420	0.8		
420-297	12.7	72.0	42.0
297-177	30.8		
177-125	24.9	72.4	50.4
125-74	17.3		
<74	13.6	69.6	53.5

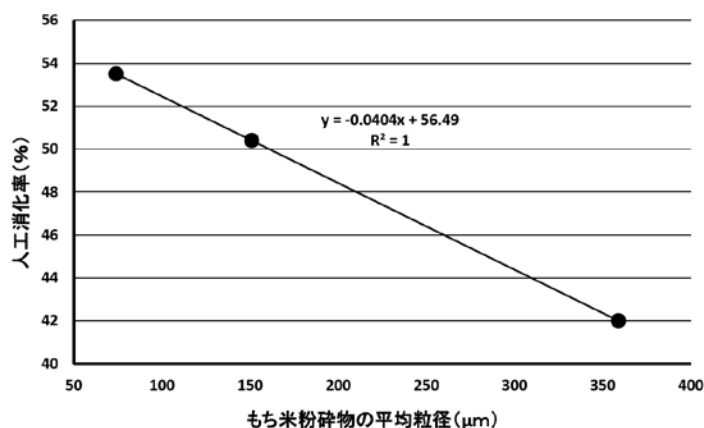


図9 もち米粉砕物の平均粒径と人工消化率

消化率が大きく違う結果に繋がっていたのではないと思われる。しかしながら、74 μm 以下の微粉でも人工消化率は53.4%と脱脂米糠や中白糠に比べると著しく低かった。

平均粒径と人工消化率の関係を図9に示した。両者間には強い負の相関が認められ、 β 澱粉同様にもち米粉砕物でも粒径が人工消化率に大きな影響を及ぼしていることが分かった。

以上の結果から、これまでの試験で米粉砕物の人工消化率が低かった原因の一つは粉碎法の不備による粒径の違いにあったことが分かったが、それ以外にも大きな要因があるものと思われる。供試物の組織学的な構造や成分組成の違い、加工工程での加熱による澱粉の変性などが考えられる。

3. 要約

- ・人工消化率は供試物の粒径によって影響を受け、粒径が小さい程消化率が高かった。
- ・これまでの試験で米粉砕物の人工消化率にバラツキが大きかった原因の一つに粉碎法の不

表9 小麦粉, 中白糠, 米粉の粒度分布

粒径 (μm)	小麦粉		米	
	I	II	中白糠	米粉
>420 (%)		1.5	8.2	12.8
420-297	0.2	2.6	47.3	40.9
297-177	40.3	82.7	38.4	42.9
177-125	30.5	3.0	5.9	3.2
125-74	19.0	6.6	0.2	0.2
<74	10.0	3.6		
平均粒径 (μm)	211	237	299	299
人工消化率 (%)	74.3	61.3	94.3	75.7

備による粒径の違いがあることが分かった。

- ・米粉碎物の人工消化率が低い原因は、粒径以外にも未だ明らかになっていない大きな要因がある可能性が高い。

試験 -4. 炭水化物源の粒度分布と人工消化率

試験 -3 で同じ原料であれば粒径が小さい程人工消化率が高いことが分かった。また、前報において小麦粉と中白糠、米粉では人工消化率が可也違うことを報告した。よって、試験 -4 では原料が違えば粒径と人工消化率の関係が如何変化するのかを明らかにするため、小麦粉2種類、中白糠、米粉の粒度分布を調べて人工消化率との関係を検討した。

1. 材料と方法

用いた小麦粉、中白糠、米粉は前報と同じ物をそのまま用いた。それぞれの粒度分布は試験 -3 と同じ方法で測定した。

2. 結果

結果を表9に示す。平均粒径は明確な単峰型を示した小麦粉Ⅱでは、その単峰の平均粒径 $[(297+177)/2]$ とした。一方、明確なピークを有さなかったその他の物では、高い値を示した部分の平均値 [小麦粉Ⅰであれば $(297+125)/2]$ とした。

中白糠や米粉より人工消化率が低い小麦粉の方が粒径は小さかった。また、小麦粉間の比較では“ふすま”に近い低品質の小麦粉の方が粒

径が小さい傾向を示した。これは試験 -3 のもち米でも最も粒径が小さい画分には米粒の外側の部分が多いと思われる結果と一致していた。2種類の小麦粉間の比較では粒径が小さい方が人工消化率が高い傾向を示したが、僅か2種類の比較であるので、断定は難しい。

小麦粉より明らかに粒径が大きい中白糠と米粉の方が人工消化率は高い値を示した。また、同じ米で平均粒径も略同じの中白糠と米粉においても人工消化率は可也違っていた。中白糠の原料である山田錦他の酒造好適米は米粉の原料である一般米（うるち米）とは組織学的な構造や成分組成が異なっている様なので、両者を米として一括りにしてはいけないのかも知れない。また、中白糠と米粉では製造法も大きく違う様なので、製造法も影響している可能性がある。

以上の結果から、原料や製造法などが異なる物では粒径以外の要因も大きな影響を及ぼしていることが推定出来る。

試験 -5. 各種中白糠の平均粒径とニジマス稚魚の飼育成績

試験 -4 で原料が違えば粒径と人工消化率の関係は違う結果になることが分かった。これまでの試験で中白糠は他の炭水化物源よりもジアスターゼによる人工消化率、魚による消化吸収率共に高く、魚の飼育成績も良いことが分かっている。さらに、中白糠には産地や成分が違う色々な種類が市販されており、中白糠の種類によって得られる結果も多少異なることも分かっている。この中白糠間の違いが、それぞれの中白糠の粒径の違いに関係しているのか否かを試験 -5 で調べた。

1. 材料と方法

産地が異なる4種類の中白糠を用いたが、これは前報の試験 -2 で用いた中白糠と同じ物である。但し、前報では5種類の中白糠を用いたのであるが、この中の1種類は分析篩での振盪

表 10 各種中白糠の粒度分布

粒径 (μm)	A	B	C	D
>420 (%)	7.6	8.5	10.1	6.0
420-297	35.2	16.3	12.5	51.1
297-177	18.6	66.9	68.0	34.2
177-125	26.9	6.5	7.5	4.5
125-74	9.7	1.6	1.3	3.1
<74	2.1	0.2	0.7	1.1

処理中にダマの形成が著しく、粒度分布の測定が不可能であったので、今回の試験には採用しなかった。粒度分布の測定法は試験 -3 と同じである。

2. 結果

各中白糠の粒度分布を表 10 に示す。B と C は単峰型の分布を示し、A と D は低く幅広いピークを持っていた。それぞれの平均粒径は試験 -4 で説明した方法で求めた。

表 11 と図 10 に各中白糠の平均粒径とニジマス稚魚の飼育成績（飼料効率、タンパク質効率）の関係を示す。平均粒径と飼料効率、タンパク質効率の間には強い負の相関があり、平均

表 11 各種中白糠の平均粒径と飼育成績

	平均粒径 (μm)	飼料効率 (%)	タンパク質効率 (%)
A	273	88.3	172.5
B	237	98.6	190.6
C	237	94.6	185.1
D	300	86.5	168.4

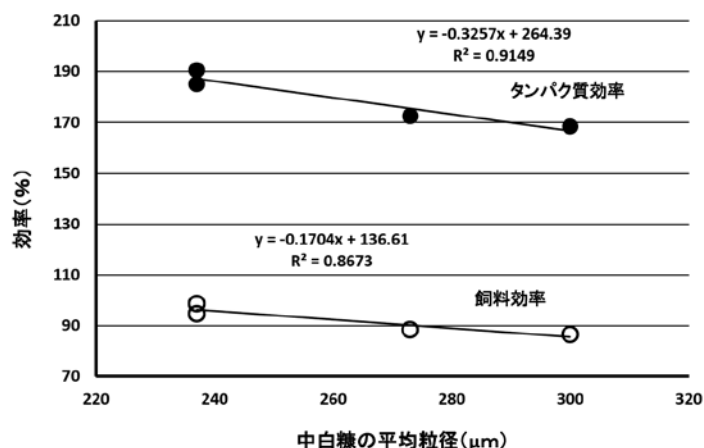


図 10 各種中白糠の平均粒径と飼育成績

粒径が小さい程飼育成績が良かった。

この様に、中白糠では平均粒径が小さい程魚によって効率よく消化吸収されて高い飼育成績を示すようである。

3. 要約

- ・中白糠間の比較で、平均粒径が小さい程効率よく魚に消化吸収され、高い飼育成績を示すことが分かった。

考察

小麦粉と米関連物（脱脂米糠、中白糠、米粉砕物など）の人工消化率を同じ炭水化物量で比較すると、必ず米関連物の方が人工消化率が高い。単離したβ澱粉で人工消化率を比較すると、原料の違いに関係なく澱粉の平均粒径が小さい程人工消化率が高く、澱粉の平均粒径と人工消化率の間には強い負の相関が認められる。小麦澱粉より米澱粉の方が平均粒径が小さいので、小麦粉の人工消化率が米関連物より低い原因の一つは澱粉の粒径にあるのであろう。

もち米微粉砕物の人工消化率試験で、同じ原料であれば粒径が小さい程人工消化率が高いことが示された。

小麦粉では炭水化物量が高いほどジアスターゼによる人工消化率が低い傾向がある。炭水化物含量が少ない“ふすま”

に近い品質の小麦粉ほど粒径が小さいので、小麦粉の人工消化率も粒径によってある程度左右されているのであろう。

中白糠には産地や成分組成が異なる色々な種類の物がある。中白糠は総じてジアスターゼによる人工消化率、魚による消化吸収率、魚の飼育成績共に他の炭水化物源より高いが、中白糠の種類によって多少のバラツキがある。その原因を調べたところ、中白糠の粒径が影響してお

り, 粒径が小さい程結果が良いことが示された。

中白糠と米粉砕物や米粉の人工消化率を比較すると, 同じ米でも中白糠は粒径に関係なく高い値を示す。中白糠の原料である山田錦他の酒造好適米と一般米(うるち米)では組織学的な構造や成分組成(酒造好適米はアミロース含量が高い)など, 色々な違いがあるようなので, 両者は米として一括りには出来ない様である。また, うるち米ともち米にも違いがあるようなので, 分けて考えた方が良いのかも知れない。

同じ原料であれば人工消化率, 消化吸収率, 飼育成績などの違いは, 原料の粒径の違いによって可也の部分が説明出来るようであるが, 原料間の違いは説明が付かない部分が多い。それぞれの原料の組織学的な構造の違い, 製造工程の違い, 由来する部位の違いなどが関与して

いる可能性が高い。

魚による消化吸収率と魚の飼育成績は, 未だ明らかにされていない原料側の要因と前報で触れた腸管の蠕動運動, 消化酵素の種類と活性, 腸内細菌の関与などの魚の側の要因が大きく影響しているであろう。

今後, 原料毎に何が人工消化率や消化吸収率を規定する要因になっているのかを明らかにしていく必要がある。

謝辞

本原稿を作成するに当たり, 黄桜株式会社研究所の古川幸子様から中白糠や酒造好適米について色々ご教示頂いた。記して感謝の意を表します。

文 献

1. 酒本秀一: ニジマス用飼料の炭水化物源 -1. *New Food Industry*. **60** (10): 46-56. 2018.
2. 古川厚, 塚原宏子: 養魚飼料消化試験の指標物質としての酸化クロムの湿式定量法について. *日本水産学会誌*, **32**(6): 502-506. 1960.
3. 吉中禮二: タンパク質・魚・貝・海藻の栄養機能 - 日本型食事のすすめ - (吉中禮二著), 恒星社厚生閣, 東京, 53-68. 1993.
4. 酒本秀一: ニジマス用飼料, アユ用飼料の適切な α 澱粉添加量. *New Food Industry*. **60** (9): 65-80. 2018.

連絡先: 酒本 秀一

email: si290347-5313@tbz.t-com.ne.jp

グルテンフリー穀物 食品と飲料，グルテンの検知ー 2

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1,2}

竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)³ 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)³

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会会長, ³ 神戸女子短期大学

Key Words：グルテンフリー セリアック病

本論文「グルテンフリー穀物 食品と飲料，グルテンの検知-2」は，“Gluten-Free Cereal Foods and Beverages” (Edited by E. K.Arendt and F.D.Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER), の第3章 Detection of gluten by Herbert Wieser の一部を翻訳紹介するものである。

タンパク質抽出

グルテン分析の第1ステップは，グルテンタンパク質の未処理あるいは加工処理した食品からの抽出である。天然のグルテンタンパク質は水あるいは塩溶液には溶けない。1番目の区分（プロラミン）は，水/アルコールに溶け，一方2番目の区分（グルテリン）は不溶性残渣にとどまる。残グルテンタンパク質はSS結合を還元すれば（例えばジチオスレイトールにより）水/アルコールに溶け；尿素あるいは sodium dodecyl sulfate (SDS) で会合をはずすと可溶化が進む (Wieser *et al.* 2006)。以前の Draft Revised Codex Standard (CX/NFSDU 00/4, 2000) には詳細な抽出方法が記述しており，そこには最近の草案 (CL 2006/5-AFSDU, 2006) の唯一の R5ELISA 法について（以下参照）述べてる。

ドキュメント CX-NFSDU (2000) によると，食品あるいは成分中のグルテンの測定はプロラミンの測定に基づくべきで，それは 40-70% エタノールで抽出されたグルテンからの区分と定義する。エタノール濃度は 60% が全プロラミンを抽出するのに提言され，それはこれまでの

研究で小麦粉からの最高のグリアジンの抽出がこの濃度で進められたからである (Wieser *et al.* 1994)。固形食品あるいは固形成分に関しては，10% 以上脂質含量の混在の食品では以下の用に脂質除去の必要がある；5g を 50mL のヘキサンとブレンドしてホモゲナイズし，1500 × g で 30 分間遠心分離する。上清は捨て，抽出ステップはサンプルから脂質がなくなるまで繰り返す。脂質含量が 10% 以下の食品では脂質除去の必要はない。抽出処理の前に，脱脂した 5g あるいは非脂質食品は 60℃ で乾燥し粉体化する。乾燥サンプルの一部をその 10 倍量の 60% エタノールと 2 分間ホモゲナイズし，15 分後に 10 分間 1500 × g で遠心分離にかける。上清液を除去し保存する。もし必要なら 4℃ で保存する。沈殿はできたらこれを遠心分離して除去する。溶液食品および成分の場合には，一部をエタノールで希釈し，その際最終混合物中 60% エタノール濃度になるようにする。

混合物はホモゲナイズし，さらに固形食品抽出時のように扱う。サンプルの異なった成分により引き起こされるマトリックス効果は，抽出収量に影響を与え，このためグルテン含量測定

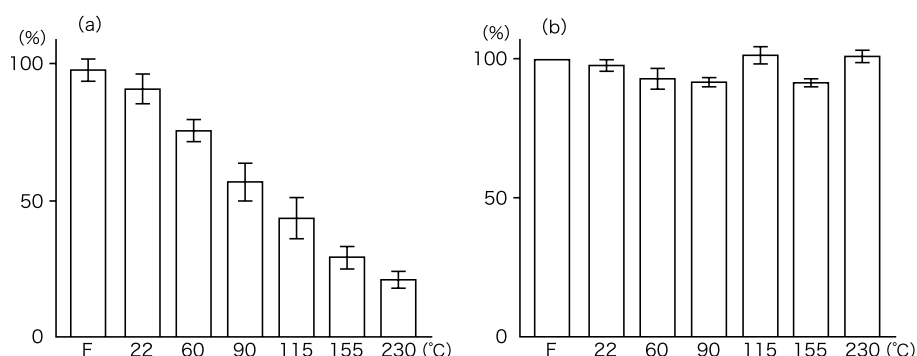


図 3.1 各温度処理したドウから抽出した小麦グリアジン (%)

(a) 60% エタノール, (b) カクテルの場合。

カクテル;還元剤 (2-メルカプトエタノール) の脱凝集剤 (グアニジン) との組み合わせ。

結果に影響する。たとえば茶, ホップ, ココア製品のようなポリフェノールに結合するとプロラミンの回収は低下する。カゼイン, 尿素 (CX-NFSDU 00/4, 2000), あるいはゼラチン (Garuia *et al.* 2004) 添加を抽出物にするとプロラミン含量の測定値の低下を抑えるため, 推奨される方法である。高度に粘度の高いサンプル, たとえばデンプン由来のシロップのようなものはマトリックス効果を避けるために適当な溶媒で薄めるべきである (Iametti *et al.* 2004)。グルテン分析でもう 1 つの大きな問題は, 加熱処理した食品からプロラミン抽出が不完全である事である。それは, 水/アルコールを用いた時である。加熱グルテン, 小麦パンに標準グリアジンが含まれている場合の抽出は, 各々, α/β -および γ -グリアジンの抽出が強く低下することが示された一方, ω -グリアジンは僅かに影響を受けた (Schofield ら 1983, Vieser 1998)。Cys を含む α/β -, γ -グリアンは, アルコール不溶性のグルテニンに disulfide/sulphydryl 交換鎖反応によって結合すると考えられていた。SS 結合の還元後, 全グリアジンは完全にアルコール抽出物中に回収された (Wieser, 1998)。 ω -グリアジンの加熱安定性は Skeritt と Hill (1990) によって用いられ ω -グリアジンに対し, モノクローナル抗体の免疫反応をすすめた。グルテン含有生材料, 加熱食品の結果は 40% エタノールで最も抽出がよく, 食品 (生, 料理済み, あるい

は加熱工程したもの) 全てのタイプのものの中のグルテンの定量測定で最も都合よかった。もう 1 つの方法は, 加熱食品からグルテン抽出の際, 加水分解を制限し, さらにペプシン処理をして, 生グルテン, 100°C 加熱処理グルテン両方で約 90% タンパク質抽出を塩緩衝液中で行なった (Denery-Papini ら 2002)。 α/β -, γ -グリアジンの反復エピトープに対する抗体が一部加水分解したプロラミンの定量に使用された。

還元剤 (2-メルカプトエタノール) の脱凝集剤 (グアニジン) との組み合わせ, いわゆる “cocktail” はプロラミン (グルテリンサブユニット) の完全な抽出を未加熱, 加熱食品両方から可能にした (Garcia *et al.* 2005)。図 3.1 は小麦粉, 22-230°C 加熱したドウから, 60% エタノールあるいはカクテル抽出したグリアジンの再生を比較したもので, 60-230°C まで加熱して 76% から 22% まで再生が低下した事を示す。対照として, カクテルを用いると再生はほぼ定量的に進み, 230°C で加熱したサンプルでもそうであった。抽出物を希釈後 (例えば 1:100) カクテルは ELISA システムの R5 モノクローナル抗体にもとづくものには影響しなかった。しかしながら, 他のタイプの抗体は, 還元剤に対してより感受性があるかもしれない (Ellis ら 1998, Dona ら 2004)。

未加熱処理, 加熱処理サンプルの両方の抽出に 50°C 40 分のインキュベーションが推奨さ

れた。抽出は、MALDI-TOF MS と Western blot besides ELISA と互換性があった。カクテルはまた、製品のタイプにより 60% エタノールより僅かに同じか多少高い再生となり；未加熱処理食品では 1.1 倍，小麦デンプンでは 1.4 倍，加熱処理食品では 3.0 倍である（Garcia *et al.* 2005）。異なった食品（例えばセレアル，大豆食品，ベビー食品，シロップ，チョコレート，ビール）での比較研究では，60% エタノール抽出プロラミン，あるいはカクテルのプロラミンデーターがより大きく多様化するかもしれないが，その説明はない（Immer と Haas-lauterbach 2005a, 2001, Iametti *et al.* 2005, Laffey *et al.* 2005, Malmheden Yman, 2006）。

比較タンパク質（基準タンパク質）

抽出物中のプロラミン（グルテン）含量測定のため，プロラミン（グルテン）の比較タンパク質による計算カーブを設定することができる。さらに比較は，アッセイ用のバリエーションを最小にするために用いられるべきであり，異なった研究室，あるいは異なった方法で得られた結果で比較をできるようにする。重要な比較材料の基準点は高タンパク質含量であること，抽出溶媒への溶解性，均一性，安定性，セリアック病タンパク質に当量であること，さらに測定技術に対し良好な反応性のある事である。プロラミンの多くは，ほぼグリアジンの比較タンパク質で，異なった研究所あるいは企業でつくられ，彼らの分析システムまたはキットに用いられた。比較タンパク質は異なった穀物の元から分離され，化学的にタンパク質含量あるいはタンパク質の定量を決めた。これまでの研究で，測定したグルテン含量は ELISA 法できめたが，計算に用いたその元の比較タンパク質のタイプ，テストキットによって明らかにバラバラであることがわかった（Van Eckert, 1993; Van Eckert *et al.* 1997; Sima *et al.* 1999）。1 つの例として図 3.2 は 5 種の異なった市販の比較グリアジンを同じ免疫アッセイ

中で様々な計算カーブを示した。そこで Draft Revised Codex Standard CX-N FSDU 00/4（2000）は，“gold standard” が厳しい標準条件下である研究室が調製すべきだとすすめた。

プロラミン分析と毒性（PWG）に関する European Working Group は，比較グリアジンの調製を組織がかりで行い一括使用した（van Eckart *et al.* 2006）。28 種小麦栽培品種，3 種の代表的ヨーロッパ小麦 - 生産国，フランス，UK，ドイツの代表的なものが初期のものとして選ばれた。穀類は混合，製粉，出来た製粉は脱脂し，真空乾燥された。アルブミン，グロブリンは 0.4mol/L NaCl 溶液で抽出除去され，グリアジンは 60% エタノールで抽出された。グリアジン抽出物は濃縮され，遠心分離で脱塩され，凍結乾燥，均一にホモゲナイズされた。材料はいろいろな方法で異なった研究室で分析された。できたものは，高度にホモゲナイズされ，完全に 60% エタノール中に可溶化した。粗タンパク質含量（N × 5.7, Dumas）は 89.4%。RP-HPLC は粉の同一のタンパク質パターン（ ω -， α/β -， γ -グリアジン）を示し，さらに比較タンパク質のグリアジンとも同一のものを示し，そのことは主たるグリアジン成分の何れも分離プロセスの間で失われていない事を示した。GP-HPLC 結果によると，比較タンパク質のグリアジンは 68% モノメリックグリアジン，23% オ

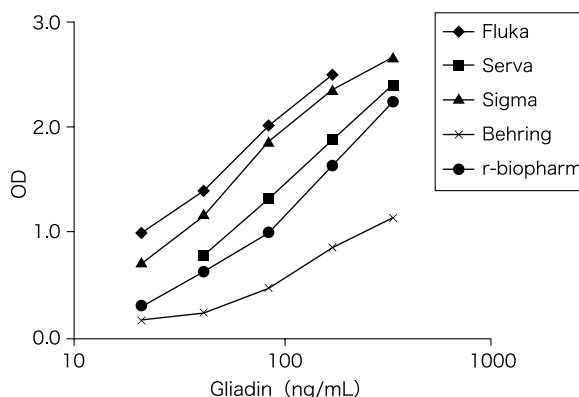


図 3.2 Ridascreen® Gluten のアッセイ方法による各比較タンパク質グリアジンに対する反応性の違い

Van Eckert *et al.* (1997)

リゴ HMW- グリアジン, 僅か 3% アルブミン, プロラミンを含む。このサンプルには高度に均一であり, 安定であり, たとえ 37℃, 28 日間保存しても大丈夫だった。PWG グリアジンは, 比較材料として全ての基準の重要点にあわせ, グルテン測定用の重要なプロラミン比較タンパク質と考えられた。

免疫化学法

原理

免疫測定法と食品分析の進歩の初期 10 年が Morris と Clifford (1985) に大々的に述べられ, 穀物貯蔵タンパク質の免疫化学については Skeritt (1988) によって述べられた。免疫化学試験はグルテン分析に選択された方法であり, Draft Revised Codex Standard によって進められ, 以来, 彼らはセリアック病毒素タンパク質の特異的, 感受性認識を素早い結果として結論づけた。免疫測定法は, 抗原と抗体(免疫グロブリン)の特異的反応に基づくもので, 物質が決定された(セリアック病毒素タンパク質およびペプチド)。抗体を含む抗血清は, 動物(たとえばラビット, あるいはマウス)の免疫によって生産されるが, それは相応する免疫原の注射によって起こる。約 5000 以上の分子量をもつ唯一の成分が免疫活性をもつために, ペプチドのような LMW 免疫原(ハプテン)がタンパク質(例えば牛血清アルブミン)と共有カップリングするようなことが起こる。この結合は抗血清をつくり, そこにはハプテンとカップルしたタンパク質の両方に対する抗体が含まれる。

抗血清は動物から得られるが, その特異性に対して試験され, できる限り生成して好ましくない特異性を除去する。これらのポリクローナル抗体(PAb)は抗原の異なった結合場所(epitopes)と反応し, グルテン分析を考えると, 結果は穀物種あるいは品種によって影響は小さい。良くない点は, 非毒性穀物からのタンパク質と高いクロスリアクションする高リスクである。より特異的なモノクローナル抗体(MAb)は, 免疫後分離された脾細胞のネズミ

骨髄細胞との融合で生産されるがそれは Galfre と Milstein(1981)のやり方である。ハイブリドーマは, 抗体に対する抗体であるが, クローンされそして成長する。結果として, MAb の調製は, 沈殿あるいはアフィニティクロマトグラフィーで精製する。MAb は大きな長所があり, それは特異性の絶対的な再生産であり, 生産の能力は殆ど無制限の量である。

抗血清あるいは抗体の評価に対して必要なことは, ある抗体はその抗原に対し, 特異的であるかどうか決める事で, さらに抗体が多少なりとも他のタンパク質ともクロスリアクトするかどうかである。主には Western Immunoblotting は抗原に対し抗体の結合を研究するために用いられた。たとえば Freedman *et al.* (1988) は, Western blots を用いて MAb のグリアジンへの結合を特徴づけるのに用いた。タンパク質は SDS-PAGE で分離され, Trans-blot cell システムを用いて nitrocellulose 膜に移した。Blot は抗体とインキュベートし, 洗浄し, さらに酵素でラベルした第 2 抗体とはじめの抗体に対しインキュベートし, 相応の着色物質とともにインキュベートする。免疫反応の非常に重要な点は, 抗原-抗体結合の定量である。古い方法は抗体-抗原複合体の沈殿形成が必要だった。最近, 抗原は異なったマーカー, 例えば蛍光染料, ある時は発光性染色のようなものでマークされ, 安定な放射性, 放射性アイソトープ (^3H , ^{14}C , ^{125}I), あるいは酵素でマークされる。ラジオイミュノアッセイ(RIA)では, 研究室で特異的な道具を必要とし, 非常に優れているところは, フリーの抗原は抗体に結合したものから分離せねばならない。ELISA はこのグルテン決定に最もよく使う技術である。ELISA は比較的方法が簡単であり, 他の技術より安価で早い結果が得られる。西洋わさびペルオキシダーゼ(基質 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), アルカリ phosphatase (基質 4-nitrophenylphosphate) と β -D-galactosidase (基質, 4-nitrophenyl- β -galactoside) は, 最も一般的なインデケーター酵素である。それらは高度

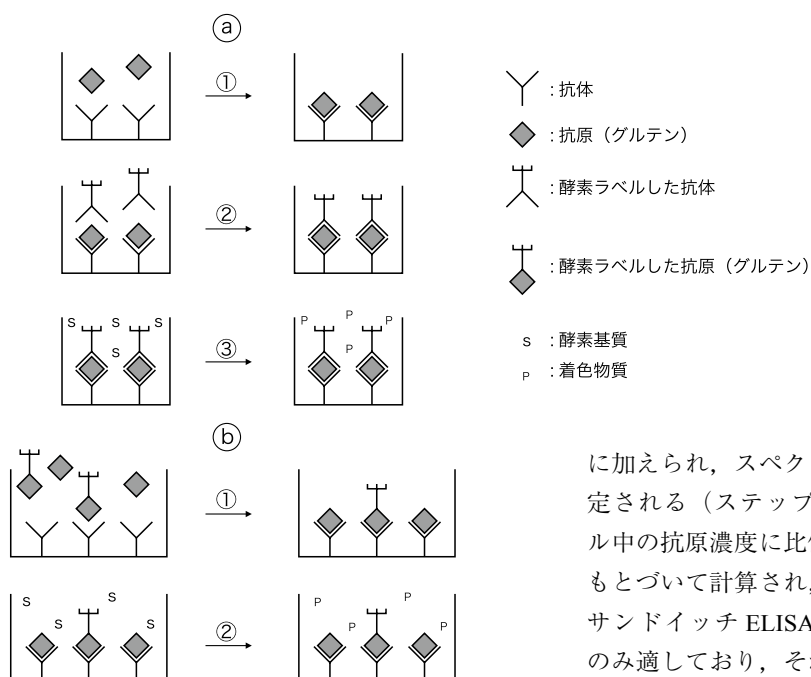


図 3.3 ELISA 法

- (a) サンドイッチ ELISA: 1 段階: 抗原抗体複合体形成 . 2 段階: 酵素ラベルした抗体の結合 . 3 段階: 酵素基質の着色物質への変化 .
- (b) 競合的 ELISA: 1 段階: 抗体結合への未ラベルと酵素ラベルした抗原の競合 . 2 段階: 酵素基質の着色物質への変化 .

に精製して利用でき, 安定で活性は感度より正確に利用できる。酵素は抗原に共有結合でリンクし, たとえばグルタルアルデヒド, あるいはカルボジイミドとの反応によってである。

2 つの ELISA システムがよくグルテン分析に用いられる。サンドイッチ ELISA と競合的 ELISA である。サンドイッチ ELISA の原理は図 3.3a に示した。捕獲抗体はプラスチックキャリアー (マイクロタイター板) の壁につけられる。抗原を含むサンプルの一部は, ミクロセル中でインキュベートされ, 抗原 - 抗体複合体の形成に向かう (ステップ 1)。洗浄後, 酵素ラベルされた検知抗体が加えられ, さらにインキュベーションで抗体に結合する (ステップ 2)。こうして抗原は 2 つの抗体でサンドイッチされる。未着の酵素マークした抗体は洗われる。この段階で酵素的基質が加えられ着色最終生産物

に加えられ, スペクトルフォトメーターで測定される (ステップ 3)。吸光度は直接サンプル中の抗原濃度に比例して, 比較タンパク質にもとづいて計算され, カーブから読み取られる。サンドイッチ ELISA 法は大きな抗原に対してのみ適しており, それは抗原は少なくとも 2 エピトープをもち, それらは抗原と酵素ラベルした抗原の両方に空間的に分離している。そこで一部加水分解されたサワードウ製品, モルト, ビールのようなものが用いられるときグルテン分析用にはサンドイッチ ELISA は不適である。一方は, 競合的 ELISA 法は 1 個のエピトープのみで小サイズの抗原の検知に安定である (図 3.3b)。アッセイは 3 成分からなる: (i) 抗体はマイクロタイタープレートに貼付ける (ii) 制限ある一定量の酵素 - ラベルした抗原 (iii) サンプルからの未ラベル抗原。システム中の成分をミックスし, ラベル, 未ラベル抗原は結合数の一定数の抗体と競合する (ステップ 1)。存在する未ラベル抗原の量が多いほどラベル抗原の抗体に対する数は小さくする。未結合の抗原は洗浄し, 酵素的基質は添加し着色物質にかえる (ステップ 2)。サンプル抗原の量が多いほど, 酵素 - ラベル抗原による色調は低くなる。検量線は比較タンパク質でつくり, サンプル抗原の定量を可能にする。食品加工で用いる加熱処理は, 測定に必要なグルテン量に低下し抽出不能プロラミン (上を見よ) によるだけではなく, タンパク質構造の変化にもよる。それは抗体により認知された修正かマスクされたエピトープ

によるためであろう。たとえば Ellis ら (1994) は、加熱したグリアジン区分の反応性の低下を MAb, サンドイッチ ELISA 法で述べている。 α/β - と γ - グリアジンはもっと熱に対し不安定であり、そのオリジナルの活性の僅か 33-51% 残存のみとなり、一方 ω - グリアジンは 93% が残る。同一のアプローチで、グリアジン区分は 70-100℃で 5 - 20 分間加熱し、4 つの異なった MAb とラビット抗-グリアジン血清を用いて競合的 ELISA で定量した (Rumbo *et al.* 2001)。その結果、加熱処理の反応性への影響は、いろいろで単に温度と加熱時間のみならず、使った抗体にもよった。そこで加熱加工食品のグルテン量の定量に用いるときには、抗体は加熱グルテンタンパク質に対して免疫反応性をテストすべきである。

進歩したアッセイ

20 世紀の初期、はじめての免疫研究は穀物に関して行なわれた。1925 年 Lewis と Wells (1925) は、小麦からのアルコール抽出物をモルモットに注射し、さらに小麦粉かあるいは他の穀物の抽出物を注射した。彼らはアナフィラキシー反応を、小麦のみならずライ麦、大麦、オート麦でもみられたがトウモロコシではみられなかった。Berger と Freudenberg (1961) のグループはバーゼルでグリアジン抗原性をより組織的に研究し、免疫沈殿技術を用いている。最初の試みでグルテンフリー焙焼加工品中の小麦タンパク質を同定するため、抗原-抗体沈殿の測定ではゲル拡散技術、免疫電気泳動、向流電気泳動 (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, 1984) の技術で行なった。検知リミット、1-50 μ g タンパク質 /mL の範囲がその用いた方法の信頼性である。ずっと高い信頼性は RIA であり、Ciclitira と Lennox (1983) の述べる方法で、抗血清は A-グリアジン、 α -グリアジンの 1 成分であるが、それに対するラビットで得たものである。このアッセイで用いた抗原は、 α/β -グリアジンを 125 I でラベルしたもので、抗原-抗

体複合体は *Stephylococcus aureus* cell 懸濁液に吸収させたあと集めたものである。アッセイの感受性は未ラベル抗原との結合の競合によって判断するが、1mg の α/β -グリアジンであった。他の小麦タンパク質に対するクロス反応は、1% 以下であり、ライ麦、大麦、あるいはオート麦の抽出物に対するクロス反応は見られなかった。

今日まで ELISA はグルテンの定量的決定のため最もよく使う方法である。ELISA 法の効率限界は、1998 年まで Denery- Papini ら (1999) によってレビューされた。はじめて信頼できるグルテン決定の競合とサンドイッチ ELISA は、PAb の全グリアジン A-グリアジンに対するもので、Windermann ら (1982) によって進められた。このアッセイは非常に感受性がよく A-gliagin で 1-20ng/mL の範囲で、全グリアジンで 10-300mg/mL の範囲で行なわれた。しかし ω -グリアジンとは反応せず、他の毒性穀物、例えばライ麦のタンパク質に反応しなかった。サンドイッチ ELISA は、未加熱、加熱食品中のグリアジンの検索に用いられた (Meier *et al.* 1984; Fritscher ら)。未加熱食品の 70% エタノール抽出でグリアジンの回収は良好である、ただしココア、コーヒー、茶が含まれている場合は除く。パンドウ中のグリアジンの回収量は 80℃以上加熱後、しかしながら強く低下する。Mckillop ら (1985) は、同様の ELISA を述べ、そこではポリクローナルウサギ抗血清を用いた。検知限界は 3.3ng グリアジンで、そのアッセイ法はセリアック病の人々のための小麦毒とくらべ、他の穀物も検知した。PAb を全グリアジンに対し用いたサンドイッチ ELISA 法は Troncone ら (1986), Aubrecht と Touth (1995) で行なわれ、クロス反応を非毒性米、トウモロコシプロラミンで行い、これらの毒性の応用の限界を示した。Friis (1988) はラビット PAb を全グリアジンに対し用いた競合的 ELISA を行なった。抗体はトウモロコシ、ミレット、米、大豆タンパク質とは反応しなかった。しかし弱くソバタンパク質とは反応した。このアッセイ

方法は検知限界 1ng 抗原に対し非常に高い正確性で検知した。さらに近年, Chirido ら (1995) は Pab の競合的 ELISA を全グリアジンに対し行い, 全てのタイプのグリアジンと HMW-GS をライ麦, トリテケール, 大麦のグリアジン同様に認めた; 僅かの反応がオートタンパク質でもみられ, トウモロコシ, 米, 大豆では全くクロス反応はなかった。試験の感度は 1ng グリアジン/mL あるいは 1mg グルテン/kg 粉であった。試験は大麦, ライ麦プロラミンでは 10-15 倍感度は低く, オート麦プロラミンでは 50 倍感度が低い。

幾つかの ELISA は PAb を用いて抗原を捕らえるためにマイクロタイター板に吸着させ, MAb を西洋わさびペルオキシダーゼあるいはアルカリフォスファターゼを抗原測定のために結合させた。トリプルサンドイッチ ELISA は Freedman ら (1987) によって応用され食品中のグリアジン含量の測定をした。ウサギポリクローナル抗グリアジン IgG は抗体を捕捉するのに用いた。検知システムは, ネズミモノクローナル上清, ヒツジ抗マウス IgG, IgM をアルカリフォスファターゼ, p-nitrophenylphosphate を基質として含む。アッセイは全てのグリアジン区分とプロラミンをライ麦, 大麦, オート麦を小麦グリアジン同様検知した。

検知限界は全てのグリアジンで 0.75mg であった。セリアック活性ペプチド 54 アミノ酸残基長に対し惹起された MAb が検知システムの一部として取り上げられる以外は同じシステムを Ellis ら (1994) は用いた。そのアッセイの感受性は, 全てのグリアジンとライ麦プロラミンに対するものは 15ng/mL (0.3mg/kg 粉), 大麦プロラミンには 125ng/mL (2.5mg/kg), オートプロラミンには 250ng/mL (5mg/kg) であった。非毒性の米, トウモロコシ, ミレット, ソールガムのプロラミンはクロス反応しなかった。最近になってアッセイはより感受的になり, そこでは MAb が合成ペプチド 19 アミノ酸長で, 31-49 の α -グリアジンの配列位置に相当するものに惹起した (Ellis ら 1998)。アッセイの感度

はグリアジンでは 4ng/mL (0.08mg/kg 粉), セカリンでは 500ng/mL, ホールッデン, アベニンでは 1000ng/mL であった。

アッセイは料理食品中のグルテンでも測定でき, しかし感度は落ちる。非毒性穀物からのプロラミンはクロス反応しなかった。一連のアッセイは MAb だけ用いて進んだ。Theobald ら (1983) は, はじめて穀物粉タンパク質に対する MAb の生産を報告し, とくに塩-可溶タンパク質で小麦アレルギーを引き起こすものに対して行なった。MAb の穀物タンパク質に対する多量の収集は Skerritt と Co-worker によってなされた (Skerritt と Underwood, 1989)。殆どの抗-グリアジン抗体はすべてのグリアジンに結合し, 一方, 幾つかの抗体はグリアジンの小グループに結合した。

抗-グリアジン MAb は 1 つの酵素結合したアッセイで用いられ, いろいろな食品でグリアジン定量をした (Skerritt, 1985)。グリアジンに対する検知限界は, しかしながら, かなり高い (20 μ g/mL)。より感受性のある競合的 ELISA では西洋わさびペルオキシダーゼラベル MAb を用いて, Hill と Skerritt (1990) によって行なわれた。抗体は ω -グリアジンとの特別の反応が選ばれ; これらの抗体はまた小麦タンパク質に並んでライ麦, 大麦のタンパク質と結合し, その結果は異なる品種で影響されなかった。これらの抗体の結合は, グルテンの料理あるいはベーキングによる加熱によって阻害されない。例えば 40-70% エタノールが推薦された。アッセイの感度は 0.05-0.10 μ g グリアジンの範囲で, 1:5 希釈の食品抽出物を用いた 200-400mg グルテン/kg に相当する。2 個の抗体に結合する ω -グリアジン, HMW-GS, プロラミン, これらはライ麦, 大麦からのもので, それらはサンドイッチ ELISA の発展に用いられ, 2 つの形でパテントと商品化した (下を見よ)。著者の記述によると (Skerritt 等, 1991), “Gluten Lab Test” は最初の方法で, 未調理, 調理, 加工食品中, 全てのタイプのグルテンを定量できる。2 番目 “Rapid Gluten Test Kit” は素早く,

定量的で、あるいは半定量的な結果で、家庭用、あるいは食品、小麦デンプン産業界で品質のコントロールに用いる。Chirdo *et al.* (1998)は、いろいろなフォーマット（競合的 ELISA、連続競合的 ELISA、サンドイッチ ELISA）で、グリアジンに対する 3MAb を用いて好感度のアッセイを行なった。

ビオチン化抗体がアッセイの 2 つに用いられた。抗体の 2 つは、広くグリアジン、セカリン、ホルデインと反応し、3 番目のみグリアジンと反応し；大豆、米からのタンパク質と反応し、トウモロコシタンパク質は観察されなかった。用いたシステムと抗体により、1:50 の希釈で検知限界は 1-20ng グリアジン /mL の範囲であった。ビオチン-アビジン (biotin-streptavidin) 相互作用をシグナル強化システムとして利用すると、グリアジン定量化に非常に有用である事がわかった。小麦、ライ麦、あるいはオートムギ粉のエタノール抽出物に対し MAb 混合物がサンドイッチ ELISA でテストされた (Sorell *et al.* 1998)。2 つの抗体は捕捉抗体として用いられ、3 つ目が認知用抗体として、ホースラデッシュペルオキシダーゼに結合する。広い特異性のために、この抗体のコンビネーションは、毒性プロラミンとの高いクロス反応性を確かにし、グリアジン、セカリン、ホルデンの認識を同じ程度 3-200ng 範囲 /mL 抽出（検知リミット約 1.5ng/mL）を許し、一方アベニンに対する感受性はずっと低い（検知リミット約 12ng/mL）。溶液（120℃、30 分）中でプロラミンを加熱すると、定量的な測定は影響しない、そしてエピトープスは抗体で認識されてこの処理によっては変性されない。ここでプロラミンの低下した抽出性は、加熱した物質の分析に対しても大きな問題のようである。同じグループはサンドイッチ ELISA 法を發展させ、それは 1 つの単独の ω -セカリンに対して惹起する MAb (R5) をベースにしたものである。R5 は捕捉および検出抗体の両方に用いられ、後方はホースラデッシュペルオキシダーゼでラベルされた (Valdes *et al.* 2003)。R5 ELISA は、小麦、ライ

麦、大麦プロラミンに同一の感受性を示し、一方、クロス反応はオート麦、とうもろこし、コメタンパク質との間では得られなかった。検出限界は 1.5mg グリアジン /mL で、これは 3.2mg グルテン /kg に相当し；再現性は $\pm 8.7\%$ で、繰返し率 7.7% である。アッセイはカクテル抽出法で加熱加工食品（前述見よ）に対して互換性がある。R5 のエピトープ特異性は、合成ペプチドでグリアジンのオーバーラップのやり方の配列にわたるものに結合する試験で特徴づけられた (Kahlenberg *et al.*, 2006)。発光試験で、R5 結合の α/β -タイプグリアジンの N 末端ドメインの全てのペプチドはセリアック病患者にとって有毒であることが知られた (表 3.2 *New Food Indust.* 60 (10): p62. 2018. 参照)。QQFPF, QQQFP, LQFPF, QLFPF といった繋がり是最も強く結合する。最近、競合的 ELISA は R5MAb を用いて進歩した (Ferre *et al.* 2004)。

サンドイッチ ELISA の対照として、このシステムは全ての小さいものを検知し、プロラミンからの毒ペプチドも検知する。そしてモルト抽出物、ビールのような部分的加水分解されたものの分析に特にデザインされたものである。表 3.3 は競合的 ELISA の高効率で、ビール中のグルテンの測定にファクター約 2-17 倍のデーターであり、これはサンドイッチ ELISA に比べてである (Hernando *et al.* 20-05; Immer and Haas-Lauterbach, 2005b)。

市販のテストキットは R5MAb に基づいたもので、発達しリングテストされた（下記参照）。新規の競合的 ELISA は MAb を用いたもので、 α -グリアジンからの毒性ペプチドに対してつくられたもので、これは Bermudo Redondo *et al.* (2005) によって述べられた。このアッセイ法はセリアック病、毒プロラミンに対し特異的であるとわかり、加水分解され特異的抽出剤で互換性のあるものも検知できる。検知限度は 0.3mg グルテン /kg であり、再現性は $\pm 3.6\%$ であった。最近まで免疫化学決定法はプロラミンの検出に焦点がおかれ、プロラミン含量はグルテンを得るためにファクター 2 によって増やし

表 3.3 生産したビールの分析：サンドイッチと競合的 R5 ELISA^a の比較

Beers	Origin	Sandwich (cocktail)	Competitive (60% ethanol)
1	Spain	6	30
2	Spain	16	76
3	Czech Republic	<3	24
4	Czech Republic	6	102
5	Belgium	181	833
6	Belgium	1113	4053
7	Germany	2410	4530
8	Germany	22	66
9	Ireland	26	49
10	Ireland	26	101
11	Mexico	<3	11
12	USA	<3	16
13	Germany	10	76
14	Germany	14	88
15	Germany	<3	74
16	Germany	8	98
17	Germany	52	212

a 値 mg gluten/kg

Adapted from Hernando *et al.* (2005) and immer and Hans-Lauterbach (2005b).

た。この計算は Draft Revised COodex Standard によって提案されたもので疑問である。というのはプロラミン（60% エタノール可溶の貯蔵タンパク質）のグルテリン（60% エタノール不溶の貯蔵タンパク質）に対する比率は極端に 1 の提案比率とちがうからだ。例はいろいろあり、その中で一般の小麦品種（プロラミン / グルテリン = 1.7-3.1）（Wieser と Kieffer, 2001）、小麦品種（1.8-1.6）（Wieser, 2000）、ライ麦栽培種（6.3-8.2）（Gellrich ら, 2003）大麦品種（0.5-2.5）（Wieser, 未発表）、小麦デンプン（0.2-4.9）（Wieser and Seilmeier, 2003）。これらの理由で正確なグルテリンの値を求める方法がプロラミン以外必要である。続いての結果は、HMW-および LMW-GS からのペプチドがひどくセリアック病患者の T cells を刺激する（Van de Wal *et al.* 1999; Vader *et al.* 2002; Molberg *et al.* 2003）、および HMW-GS は生体中で有毒であると示された（Dewar *et al.* 2006）。Ellis *et al.* (2006, 2007) はハツカネズミ MAb が HMW-GS 1 D X 5 と IDy10 に対して惹起するものをつくった。その結果は、1 個の単独の MAb は両 HMW-GS を測定するのに十分であった。イムノプロット

法は、この抗体がグリアジンと反応しない事を示した。

著者らの見解によると、この MAb はカクテル ELISA システムで用いるのに抗 - グリアジン抗体とのコンビネーションに用いる。Spaenij-Dekking *et al.* (2004, 2006) は、イムノアッセイ法を MAb をベースにしてつくり、ここではセリアック病ウイルスグルテンペプチドを認識する。 α/β - グリアジン、 γ - グリアジン、LMW-GS, HMW-GS からの T-cell epitopes に対する MAb 特異性が生成した。これらの抗体を用いたアッセイは T-cell 刺激エピトープを異なるバックグラウンドで検知した。さらにそのままのタンパク質と小麦タンパク質のフラグメントの両方は、分析されたが、それはアッセイが競合的に基づくものであるからである。

サマリーとして、PAb あるいは MAb に基づく多くの ELISA は、グルテン定量を進歩させた。しかし、そのほとんどは、特異性、感度、精度に関して共通の受容に必要なすべての要件に対応しているわけではない。2-3 のアッセイだけはリングテスト（重層試験）され、商業的に利用されている。以下、次号へ。

参考文献

1. Allmann, M., Candrian, U., Hofelein, C., and Luthy, J.: Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. *Z. Lebensm. - Wiss. Untersuch. Forsch.* **196**, 248-251. 1993.
2. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. 1984.
3. Untersuchung von Lebensmitteln. Immunologischer Nachweis von Proteinen in Backwaren (einschließlich Brot und blutenfreie Backwaren) und Süßwaren. Wien, Zürich ; Beuth-Verlag GmbH.
4. Anderson, R. P. and Wieser, H.: Medical applications of gluten-composition knowledge. In: Wrigley, C., Bekes, F., and Bushuk, W.: eds, *Gliadin and Glutenin the Unique Balance of wheat Quality*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 387-409. 2006.
5. Arentz-Hansen, H., McAdam, S. N., Molberg, Ø. *et al.*: Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology* **123**, 803-809. 2002.
6. Aubrecht, E. and Toth, A. Investigation of gliadin content of wheat flour by ELISA method. *Acta Aliment.* **24**, 23-29. 1995.
7. Berger, E. and Freudenberg, E.: Bemerkungen über die antigenen Eigenschaften von Abbaustufen des Gliadins. *Ann. Paediatr.* **196**, 238-243. 1961.
8. Bermudo Redondo, M. C., Griffin, P. B., Garzon Rasanz, M., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody-based competitive assay for the sensitive detection of coeliac disease toxic prolamins. *Anal. Chim. Acta* **551**, 105-114. 2005.
9. Camafeita, E., Alfonso, P., Acevedo, B., and Mendez, E.: Sample preparation optimization for the analysis of gliadins in food by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **32**, 444-449. 1997a.
10. Camafeita, E., Alfonso, P., Mothes, T., and Mendez, E.: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric micro-analysis: the first on-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples. *J. Mass Spectrom.* **32**, 940-947. 1997b.
11. Camafeita, E., Solis, J., Alfonso, P., Lopez, A., Sorell, L., and Mendez, E.: Selective identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of different types of gluten in foods made with cereal mixtures. *J. chromatogr. A* **823**, 299-306. 1998.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossati, C. A.: Optimization of a competitive ELISA with polyclonal antibodies for quantification of prolamins in foods. *Food Agric. Immunol.* **7**, 333-343. 1995.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossati, C. A.: Development of high-sensitive enzyme immunoassays for gliadins quantification using the streptavidin-biotin amplification system. *Food Agric. Immunol.* **10**, 143-155. 1998.
13. Ciclitira, P. J. and Lennox, E. S.: A radioimmunoassay for α - and β -gliadins. *Clin. Sci.* **64**, 655-659. 1983.
14. Codex document CX/NFSDU 00/4 Draft revised standard for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2000.
15. Codex document CL 2006/5-NFSDU. Draft revised for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2006.
16. Codex Stan 118-1981 Codex Standard for Gluten-Free Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome: WHO; p. 118. 1981.
17. Codex Standard for the Labelling of Prepacked Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. ROME; WHO. 2001.
18. Dahinden, L., von Büren, M., and Lüthy, J.: A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *Eur. Food Res. Technol.* **212**, 228-233. 2001.
19. Denery-Papini, S., Nicolas, T., and Popineau, Y.: Efficiency and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods. *J. Cereal Sci.* **30**, 121-131. 1999.
20. Denery-Papini, S., Boucherie, B., Larré, C. *et al.*: Measurement of raw, heated and modified gluten after limited hydrolysis. In: Stern, M. ed. *Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity*. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Schriften. pp. 71-73. 2002.

21. Dewar, D. H., Amato, A., Ellis, H. J. *et al.*: The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 483-491. 2006.
22. Dicke, W. K.: Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereals on the patients with coeliac disease. PhD thesis. University of Utrecht. 1950.
23. Dona, V. V., Fossati, C. A., and Chirido, F. G.: Interference of denaturing and reducing agents on gliadin/antibody interaction In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin. Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 51-57. 2004.
24. Ellis, H. J., Doyle, A. P., Wieser, H., Sturgess, R. P., Day, P., and Ciclitira, P. J. Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a sequenced peptide of α gliadin from the coeliac-activating domain I. *J. Biochem. Biophys. Methods* **28**, 77-82. 1994.
25. Ellis, H. J., Rosen-Bronson, S., O'Reilly, N., and Ciclitira, P. J.: Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of gliadin. *Gut* **43**, 190-195. 1998.
26. Ellis, H. J., Pollock, E. L., Engel, W., Fraser, J. S., Rosen-Bronson, S., Wieser, H., and Ciclitira, P. J.: Investigation of putative immunodominant T cell epitopes in coeliac disease, *Gut* **52**, 211-217. 2003.
27. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N., Wieser, H., O'Sullivan, C., and Ciclitira, P. J.: Production of murine monoclonal antibodies to toxic gluten peptides and proteins, for use in ELISA. In: Stern, M., ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 53-57. 2006.
28. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N. *et al.*: Characterisation of monoclonal antibodies raised against HMW glutenin subunits In: Stern, M. ed. Proceedings of the 21th Meeting of the Working Group on Prolamin analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, 2007.
29. Ferre, S., Garcia, E., and Mendez, E.: Measurement of hydrolysed gliadins by a competitive ELISA based on monoclonal antibody R5, analysis of syrups and beers, In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 65-69. 2004.
30. Fraser, J. S., Engel, W., Ellis, H. J., *et al.*: Coeliac disease: *in vivo* toxicity of the putative immunodominant epitope. *Gut* **52**, 1698-1702. 2003.
31. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody ELISA to quantitate wheat gliadin contamination in gluten-free foods. *J. Immunol. Methods* **98**, 123-127. 1987.
32. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Western immunoblotting of cereal proteins with monoclonal antibodies to wheat gliadin to investigate coeliac disease. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **85**, 346-350. 1988.
33. Friis, S. U.: Enzyme-linked immunoabsorbent assay for quantitation of cereal proteins toxic in coeliac disease. *Clin. Chim. Acta* **178**, 261-270. 1988.
34. Fritschy, F., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Quantitative determination of wheat gliadins in foods by enzyme-linked immunosorbent assay. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **181**, 379-385. 1985.
35. Galfre, G. and Milstein, C. Preparation of monoclonal antibodies: strategies and procedures. *Methods Enzymol.* **73**, 3-75. 1981.
36. Garcia, E., Hernando, A., Toribio, T., Genzor, C., and Mendez, E.: Test immunochromatographic rapid assay: a rapid, highly sensitive and semi-quantitative test for the detection of gluten in foodstuffs. In: Proceeding of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 55-64. 2002.
37. Garcia, E., Hernando, A., Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Matrix effects in the extraction and detection of gliadins in foods by R5 ELISA and MALDI-TOF mass spectrometry. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 59-64. 2004.
38. Gallrich, C., Schieberle, P., and Wieser, H.: Biochemical characterization and quantification of the storage protein (secalin) types in rye flour. *Cereal Chem.* **80**, 102-109. 2003.
39. Henterich, N., Osman, A. A., Mendez, E., and Mothes, T.: Assay of gliadin by real-time immunopolymerase chain reaction. *Nahrung* **47**, 345-348. 2003.
40. Hemando, A., Garcia, F., Llorente, M. *et al.*: Measurements of hydrolysed gliadins in malts, breakfast cereals.

- heated/hydrolysed foods, whiskies and beers by means of a new competitive R5 ELISA. In: Stern, M. ed. Proceedings of 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 31-37. 2005.
41. Hill, A. S. and Skerritt, J. H.: Determination of gluten in foods using a monoclonal antibody-based competition enzyme immunoassay. *Food Agric. Immunol.* **2**, 21-35. 1990.
42. Iametti, S., Cappelletti, C., Oldani, A., Scafuri, L., and Bonomi, F.: Improved protocols for ELISA determination of gliadin in glucose syrups, *Cereal Chem.* **81**, 15-18. 2004.
43. Iametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., Picariello, G., and Gabrovská, D.: Characterization of gliadin content in beer by using different approaches. In: Stern, M. ed. 2005.
44. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 73-78.
45. Iametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., de Martino, A., and Picariello, G.: Characterization of peptides and proteins in beer by different approaches. 2006.
46. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 47-52.
47. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Ridascreen α -R/Rida α -R gliadin test systems. 2003.
48. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 17th Meeting of the Prolamin Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 45-52.
49. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: The question of extraction procedures. 2005a.
50. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 45-52.
51. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Sandwich ELISA versus competitive ELISA: which approach is the more appropriate? 2005b.
52. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 53-62.
53. Kahlenberg, F., Sanchez, D., Lachmann, I., Tuckova, L., Tlaskalva, H., Mendez, E., and Mothes, T.: Monoclonal antibody R5 for detection of putatively coeliac-toxic gliadin peptides, *Eur. Food Res. Technol.*, **222**, 78-82. 2006.
54. Kasarda, D. D.: Toxic cereal grains in coeliac disease. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds. Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease. Dublin: Oak Tree Press, pp. 203-220. 1994.
55. Köppel, E., Stadler, M., Lüthy, J., and Hübner, P.: Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **206**, 399-403. 1998.
56. Kruger, E. and Bietz, J. A.: HPLC-High-Performance Liquid Chromatography of Cereals and Legume Proteins. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. 1994.
57. Laffey, C., Madden, N., Fogarty, T., and Burke, P.: Gluten testing: an Irish perspective. 2005.
58. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 63-68.
59. Lewis, J. H. and Wells, H. G.: The immunological properties of alcohol-soluble vegetable proteins. *J. Biol. Chem.* **66**, 37-48. 1925.
60. Malmheden Yman, I.: Detection of gluten/cereals in baby food samples collaborative study. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 65-74. 2006.
61. Marsh, M. N., Morgan, S., Ensari, A., et al.: In vivo activity of peptides 31-43, 44-55, 56-68 of α -gliadin in gluten sensitive enteropathy (GSE). *Gastroenterology* **108**, A871. 1995.
62. McKillop, D. F., Goslin, J. P., Stevens, F. M., and Fottrell, P. F.: Enzyme immunoassay of gliadin in food. *Biochem. Soc. Trans.* **13**, 486-487. 1985.
63. Meier, P., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Zur Bestimmung des α -Gliadin-Gehaltes in glutenhaltigen und 'glutenfreien' erhitzten Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **178**, 361-365. 1984.
64. Mendez, E., Camafeita, E., Sebastian, J. S., et al.: Direct identification of wheat gliadins and related cereal prolamins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*

- (Spec, Issue). S123-S128. 1995.
65. Mendez, E., Vela, C., Immer, U., and Janssen, F. W.: Repoet of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *Eur. J. Gastroentero Hepatol.* **17**, 1053-1063. 2005.
 66. Molberg, Ø., Solheim, Flaete, N., Jensen, T., *et al.*: Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. *Gastroenterology* **125**, 337-344. 2003.
 67. Morris, B. A. and Clifford, M, N.: Immunoassays in Food Analysis. London; Elsevier Applied Science. 1985.
 68. Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Detection of wheat DNA in foods by a quantitative real-time PCR system: can the measurement of wheat DNA be used as a non-immunological and complementary tool in gluten technology? In: S-tern. M, ed. Proceedings of the 18h Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissen schaftliche Scripten, pp.91-98. 2004.
 69. Mujico, J. R., Hernando, A., Lombardia, M., *et al.*: Quantification of wheat, barley and rye contamination in oat samples by real-time PCR. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.87-94. 2005.
 70. Mujico, J. R. and Mendez, E.: Simultaneous detection/quantification of wheat, barley and rye DNA by a new quantitaive real-time PCR sysytem. In: Stem. M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin ANalysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-45. 2006.
 71. Osborne, T. B.: The proteins of the wheat kernel. Publication 84. Carnegie Inst., Washington, DC. 1907.
 72. Ranz, A. I., Venteo, A., Vela, C., and Sanz, A.: Ingezim gluten. Immunoenzymatic assay for gluten detection using monoclonal antibody R5. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analaysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 37-49. 2004.
 73. Ranz, A. I., Venteo, A., Cano, M. J., Vela, C., and Sanz, A.: Development of a new and rapid semiquantitative method for gliadin detection using R5 antibody. In: Stern, M. ed.: Preoceeding of the 19th Meeting of the Workin Group on Prolamin Analaysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-44. 2005.
 74. Rumbo, M., Chirido, F. G., Fossati, C. A., and Anon, M. C.: Analysis of the effects of heat treatment on gliadin immunochemical quantification using a panel of anti-prolamin antibodies. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5719-5726. 2001.
 75. Sandberg, M., Lundberg, L., Ferm, M., and Malmheden, Yman, I.: Real time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 344-349. 2003.
 76. Schofield, J. D., Bottlomley, R. C., Timms, M. F., and Booth, M. R.: The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions. *J. Cereal Sci.* **1**, 241-253. 1983.
 77. Seilmeier, W. and Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. IV. Reactivity of gliadin fractions and components from different wheat species in a commercial immunoassay. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 360-364. 2003.
 78. Shewry, P. R. and Tatham, A. S.: The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J.* **267**, 1-12. 1990.
 79. Sima, A., van Eckert, R., and Pfannhauser, W.: Vergleich unterschiedlicher kommerzieller ELISA-Testsystem zur Bestimmung von Gluten. *Lebensmittelchemie* **53**, 40. 1999.
 80. Skerritt, J. H.: A sensitive monoclonal-antibody-based test for gluten detection: quantitative immunoassay, *J. Sci. Food Agric.* **36**, 987-994. 1985.
 81. Skerritt, J. H.: Immunochemistry of cereal grain storage proteins, *Adv. Cereal Sci. Technol.* **9**, 263-338. 1998.
 82. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1771-1778. 1990.
 83. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods: collaborative study. *J. AOAC* **74**, 257-264. 1991a.
 84. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Self-management of dietary compliance in coeliac disease by means of ELISA "home test" to detect gluten. *Lancet* **337**, 379-382. 1991b.
 85. Skerritt, J. H. and Underwood, P. A.: Specifity characteristics of monoclonal antibodies to wheat grain storage proteins, *Biochem. Biophys. Acta* **874**, 245-254. 1986.
 86. Skerritt, J. H., Devery, J. M., and Hill, A. S.: Chemistry. celiac-toxicity and detection of gluten and related

- prolamins in foods. *Panminerva Med.* **33**, 65-74. 1991.
87. Sollid, L. M.: Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat. Rev. Immunol.* **2**, 647-655. 2002.
88. Sorell, L., Lopez, J. A., Valdes, I., *et al.*: An innovative sandwich ELISA system based on an antibody cocktail for gluten analysis, *FEBS Lett.* **439**, 46-50. 1998.
89. Spaenij-Dekking, E. H. A., Kooy-Winkelaar, E. M. C., Nieuwenhuizen, W. F., Drijfhout, J. W., and Koning, F.: A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of α/β - and γ -gliadins. *Gut* **53**, 1267-1273. 2004.
90. Spaenij-Dekking, L., Kooy-Winkelaar, Y., Stepniak, D., Edens, L., and Koning, F.: Detection and degradation of gluten. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 59-64. 2006.
91. Stern, M., Ciclitira, P. J., van Eckert, R., *et al.*: Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **13**, 741-747. 2001.
92. Sturgess, R., Day, P., Ellis, H. J.: *et al.*: Wheat peptide challenge in coeliac disease. *Lancet* **334**, 758-761. 1994.
93. Theobald, K., Bohn, A., Thiel, M., Ulmer, W. T., and König, W.: Production of monoclonal antibodies against wheat flour components. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **72**, 84-86. 1983.
94. Troncone, R., Vitale, M., Donatiello, A., Farris, E., Rossi, G., and Auricchio, S.: A sandwich enzyme immunoassay for wheat gliadin. *J. Immunol. Methods* **92**, 21-23. 1986.
95. Vader, W., Kooy, Y., van Veelen, P. *et al.*: The gluten response in children with celiac disease is directed towards multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology* **122**, 1729-1737. 2002.
96. Valdes, I., Garcia, E., Llorente, M., and Mendez, E.: Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **15**, 465-474. 2003.
97. Van de Wal, Y., Kooy, Y. M. C., van Veelem, P. *et al.*: Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur. J. Immunol.* **29**, 3133-3139. 1999.
98. Van Eckert, R.: Methodological and practical experience in gluten analysis. *Ernährung/Nutrition* **17**, 163-165. 1993.
99. Van Eckert, R., Scharf, M., Wald, T., and Pfannhauser, W.: Determination of proteins with ELISA-methods: doubtful quantitative results? In: Amado, R. and Battaglia, R. eds. Authenticity and Adulteration of Food-the Analytical Approach. Proceedings of the 9th European Conference on Food Chemistry, FECS Event No. 220. Vol. 1. Zürich: Swiss Society of Food and Environmental Chemistry, pp. 263-268. 1997.
100. Van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P. J. *et al.*: Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *J. Cereal Sci.* **43**, 331-341. 2006.
101. Weisgerber, C.: ELISA for the detection of gliadin in food. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 12th Meeting of the Working Group on Protamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Eigenverlag, p. 59. 1998.
102. Wieser, H.: Cereal protein chemistry. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds, *Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease*. Dublin: Oak Free Press, pp. 191-202. 1994.
103. Wieser, H.: The precipitating factor in celiac disease. In: Howdle, P. D., ed. *Bailliere's Clinical Gastroenterology*, Vol. 9: Coeliac Disease. London: Bailliere Tindall, pp. 191-207. 1995.
104. Wieser, H.: Investigations on the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **A207**, 128-132. 1998.
105. Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *Eur. Food Res. Technol.* **211**, 262-268. 2000.
106. Wieser, H. and Antes, S.: Development of a non-immunochemical method for the quantitative determination of gluten in wheat starch. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 19-23. 2002.
107. Wieser, H. and Kieffer, R.: Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a microscale. *J. Cereal Sci.* **34**, 19-27. 2001.
108. Wieser, H. and Seilmeier, W.: Determination of gliadin and gluten in wheat starch by means of alcohol extraction and gel permeation chromatography. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 17th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 53-57. 2003.

109. Wieser, H., Belitz, H.-D., Idar, D., and Ashkenazi, A.: Coeliac activity of the gliadin peptides CT-1 and CT-2. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **182**, 115-117. 1986.
110. Wieser, H., Seilmeier, W., and Belitz, H.-D.: Quantitative determination of gliadin subgroups from different wheat cultivars. *J. Cereal Sci.* **19**, 149-155. 1994.
111. Wieser, H., Antes, S., and Seilmeier, W.: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* **75**, 644-650. 1998.
112. Wieser, H., Bushuk, W., and MacRitchie, F.: The polymeric glutenins. In: Wrigley, C., Bekes, F., and Bushuk, W. eds. *Gliadin and Glutenin: the Unique Balance of Wheat Quality*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. pp. 231-240. 2006.
113. Windemann, H., Fritschy, F., and Baumgarmer, E.: Enzyme-linked immuno sorbent assay for wheat α -gliadin and whole gliadin. *Biochim. Biophys. Acta* **709**, 110-121. 1982.
114. Wrigley, C., Corke, H., and Walker, C. E.: *Encyclopedia of Grain Science*. Vol.1-3. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 2004.

連絡先: 瀬口 正晴

email: gr228587@wf7.so-net.ne.jp

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
沈殿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
お気軽にお尋ねください。

 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 TEL03-3863-8913
本社: 大阪市北区中之島2-2-7 TEL06-6231-8265

漢方の効能

Efficacy of traditional medicine “KAMPO”

(2) 薬膳とは

What is Medicinal Food “YAKUZEN”

白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)*

はじめに

人類が誕生し、700 万年～800 万年経っているといわれます。この間、私達の先祖は飢えと渴きをしのぐため、実に様々なものを口にしたことでしょう。その経験と知恵が食品や医薬品へと発展し、現代へと受け継がれてきました。今では菓子や果物など季節を問わず、口に入れられる時代になり、ずいぶん食生活が豊かになった半面、肥満、偏食、正しい食習慣、食事に対する認識などの問題がクローズアップされています。医療面でも、かつては成人病といわれ、大人だけと思われていた生活習慣病が子どもにまで及び、食事の大切さ、普段からの健康管理の重要性が強調されています。

医食同源とは

「医食同源」、「薬食同源」という言葉があります。これらはすなわち、医薬品も食品も源は同じという意味です。今でこそ私達は医薬品といえば、きれいに梱包されたカプセルや錠剤などを連想し、食品とは区別して病気の予防や治療に使うものと思っていますが、実はこのようになったのは、長い人類の歴史からみると、ごく最近のことなのです。今日、医食同源がクローズアップされるのは現在の我々の生活があまりに急激に変化し、栄養の過剰摂取、アンバランス、運動不足などによって多くの問題が生じているからなのです。

陰陽五行説と薬膳

人類はさまざまな経験をしながら知識を蓄え、それらの知識が整理、整頓され、学問体系が生まれました。中でも中国では食物、人体、宇宙の三者を相対的に関係づける方向へ人々の関心が動いたようです。すなわち、これが「陰陽五行説」といわれる理論体系で、森羅万象、すべてのものは陰陽の二元から成り立つといわれるもので、いろいろな事象を組み合わせ、バランスを重視することが特徴のようです。つまり、天には陰（月）と陽（太陽）があり、それが地の五行（木火土金水）を生じる（図1）。身体を例にとると、地の五行には肝心脾肺腎の五臓が対応し、更に食物、味なども組み合せたのです。一方、西洋でも同じように長い間、医薬品として自然のものを使用していたのですが、14～16世紀のルネサンス以後、食物や薬物が身体を養い、病気を治療するのはその中に特殊な物質があるからだろうという解析的な考

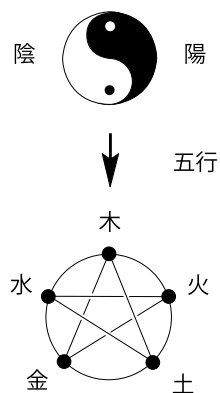


図1 陰陽五行の図

* 城西大学薬学部生薬学教室 shiratak@josai.ac.jp

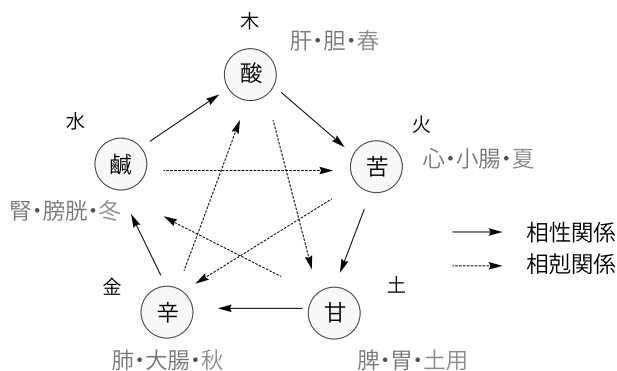


図2 五行の相生・相剋図

え方が主流になり、これが今日の近代科学へと発展していったのです。陰陽五行説は約 2000 年前、漢の時代に書かれた黄帝内経^{こうていだいけい}という書物にみられ、『陰陽は万物の根本であり、人体では陰は体の奥にあって生命の原動力である精気を貯え、陽は病因や外敵の攻撃から身を守り、筋肉を強くするもので、陽が強すぎると経絡の流れが急になり、逆に陰が強すぎると精気が縛られて外面に発散できなくなる。従って陰陽のバランスは養生の最も基本的なものである。』というものです。

陰は五味（酸、苦、甘、辛、鹹）から生じ、五味には、「相生相剋」といわれる互いが相乗効果で良い相性を生む「相生」と、互いに力を弱め合う「相剋」の関係があり、五行（木火土金水）、五臓（肝、心、脾、肺、腎）、五腑（胆、小腸、胃、大腸、膀胱、これらに三焦を加えて六腑という）、五季（春、夏、土用、秋、冬）が対応し、さらに、食物の五穀（胡麻、麦、米、黍、大豆）、五果（李、杏、棗、桃、栗）、五畜（犬肉、羊肉、牛肉、鶏肉、豚肉）などがあって、それぞれに良い作用、良くない作用を及ぼします。例えば腎には鹹味が良く、大豆、栗、豚肉が良い食べ物ということになり、逆に腎に良くない味は甘味ということになります。なぜなら、腎は水、甘味は土であり、土は水に剋^かつからです（図2）。さらに食物には五性（四気）があり、体を温める作用の強いものから順に、熱温平涼寒（平は体を温めも冷やしもしないので、熱温涼寒の四気とする）としています。これらの食物は同じ家族でも人、年齢、時期によって異なります。このように、中医学の古典に記載されている東洋の理論体系を基礎とした漢方理論にのっとり、健康増進、病気の予防と治療、延寿を目的として生薬と食材を組み合わせた料理が薬膳といえます。ここで私たちが注意しなければいけないのは何千年もの間に言葉の意味が変わり、臓、味、食物も、今、我々が使っているのと全く同じという訳ではないことです。世界の各地域で生まれた各民族の伝統医学の多くが滅び去った今もお、数千年の昔、中国で生まれた『陰陽五行説』が、中国、韓国、日本を中心とする東アジア地域で受け継がれているのは素晴らしいことです。特に近年、ヨーロッパ、北アメリカなどでも、西洋医学万能というわけにもいかず、漢方をはじめとする東洋医学が注目され、伝統医学の国際標準化が“国際標準化機構 International Organization for Standardization (ISO)”を中心に活発化しています。



酒造りの文明史⑫

古賀 邦正 (KOGA Kunimasa)
(一財) 自然環境研究センター

日本酒の来た道 (3)：弥生時代と酒造り

最近の考古学研究によって縄文時代の草創期から早期の間（約 16000 年前～ 7000 年前）にヒエの栽培が行われていたことが明らかになった。このことから、穀物の酒としては麴によるヒエの酒があったのではないかという推論を前回述べた。また、縄文時代の人々の暮らしぶりや中国・朝鮮半島の様子について述べた。今回は前 10 世紀後半に朝鮮半島から水田稲作民が日本列島に渡来した後、水田稲作が日本列島に拡大してゆく様子やそれに伴っての人々の暮らしぶりはどう変わっていったか、また、酒造りへの影響はどうだったかについて述べることにしたい。

6-6. 弥生時代：大陸の状況

弥生時代は紀元前 10 世紀後半から紀元 3 世紀頃までの時代で、水田稲作の本格的な開始・弥生式土器・金属器の使用という“弥生文化”がその特色とされる。しかし、現代の元号の変更のように、ある日を境に突然、縄文時代から弥生時代が変わったわけではない。水が濾紙に染み込んでゆくようにじわじわと弥生文化が縄文文化の日本列島に浸透していったに違いない。前 10 世紀頃には朝鮮半島の土器が九州東部や中国地方の内陸部で見つかっており、この頃から弥生時代の萌芽は芽生えていた。土器にはイネ粳のスタンプ痕がついていた。前 10 世紀後半には玄海灘沿岸に朝鮮半島からの渡来人が住みついて弥生文化の象徴の一つである水田稲作を行っていたとされている。

弥生文化は朝鮮半島を介しての中国の影響が大きい。前号で縄文時代から弥生時代にかけての中国の様子を概観しているが、弥生に入る少し前（前 11 世紀後半）に殷王朝を周王朝が滅ぼしている。周の時代は前半が西周（前 11 世紀～前 771 年、都：鎬京（現在の西安））、後半が東周（前 770 年～前 256 年、都：洛邑）の二つに分かれる。西周の時代には周王は安定した治世を行っていたが、やがて西方辺境の異民族統治に失敗して、混乱の中、都を東方の洛邑に移して東周とした。しかし、すでに諸侯を統制するだけの力も権威もなく、諸侯の自立化が始まる。東周時代の前半は春秋時代（前 770 年～前 403 年）、後半が戦国時代（前 403 年～前 221 年）に分かれる。春秋時代は周王の力は衰えたとはいえ、王を盛り立てようと諸侯がそれなりに協力した時代だった。古い規範をかなぐり捨て「下克上」となったのが戦国時代である。春秋・戦国の時代には鉄器が用いられるようになり、戦いは激しさをました。前 221 年に秦の始皇帝が中国を統一。前 202 年に漢がこれに代わった（前 202 年～後 220 年）。漢王朝の時代は前半の前漢（前 202 年～後 8 年、都：長安）と後半の後漢（25 年～220 年、都：洛陽）の 2 つに分けられる。その後、各地の豪族が群雄割拠したが、最終的に中国全土は魏・呉・蜀の 3 勢力に分割された。これが三国時代（220 年～280 年）である。

弥生時代に入ると中国文化の多くは朝鮮半島を介して伝来するが、当初、朝鮮半島やその北に広がる中国東北部にはまだ古代国家は成立していない。しかし、前 11 世紀には朝鮮半島南部には水

田稲作を行なう農耕社会が成立し、周囲に堀をめぐらした環濠集落や有力者の墓などが出現して、ムラの有力者とそれ以外の人々の身分の差が顕在化してきていたようだ。こうした農耕社会の変化はその内部に矛盾を生み、それから逃れようとする人びとが現れてくる。そういった人々が前 10 世紀後半頃、九州北部に水田稲作を伝えたと考えられている。続いて、漢王朝の前漢第七代皇帝の武帝（在；前 141 ～前 87）が前 108 年に北部朝鮮を征服して楽浪・臨屯・玄菟・真番の四郡を置いて統制を強めると、中国先進文化の朝鮮半島への浸透は加速したが、同時に強い統制から逃れる人々がさらに日本に渡って来た。その結果、大陸の先進文化の日本への伝来が促進されたと考えられる。

文明の発展段階としては青銅器時代ついで鉄器時代と続くのだが、日本の場合は青銅器と鉄器がほぼ前後して伝えられることになり、日本では正式の青銅器時代を経過せずに鉄器時代に移り、実用の利器の一部に鉄器が使用され、青銅器は儀礼的・宝器的なものとして使われた。

紀元 1 世紀になると日本列島に部族国家が形成され、4 世紀には大和朝廷による統一がなされるが、文字の使用は 5 世紀以降ということとなる。

6-7. 弥生時代：水田稲作の伝搬と拡がり

前述した通り日本列島での最初の水田稲作は、前 10 世紀後半、朝鮮半島南西部の人々が九州北部の玄海灘沿岸地域（福岡県早良平野）で始めたと考えられている。この人々は水田稲作民と呼ばれる。水田稲作民は稲作を効率的に行なうために適した労働組織や物資交換の仕組みを備えた社会を持ち、米の豊穰を祈る祭りを行なうなど米作りを生活の中心に置いた人々のことである。

“新参者”の彼らの周辺には縄文時代から生活していた“在来民”がいた。在来民は、特定の食料に頼らずに採集・狩猟・漁労そして畑作などあらゆる食料獲得手段を駆使して生活をしていたが、縄文晩期になるとほとんどの在来民がアワ・ヒエなどの穀物を農耕によって収穫して、食料の一部としていた（農耕を営む在来民は“園耕民”ともいう）。コメも焼畑農法（移動農法）で作っていた。しかし、農耕は生業の一部であって、在来民は農耕中心の生活を送っていたわけではない。水田稲



図 6-13. 水田稲作の拡散

（藤尾慎一郎「弥生時代の歴史」より）

作民が玄海灘沿岸にやって来た後も、生態系が交差して多様な食料の獲得に都合のよい川の上・中流で暮らしていて、川の下流に暮らす水田稲作民とは棲み分けの状態にあった。

玄海灘沿岸地域に限ってのことだが、前9世紀後半になると周りに内壕と外壕を2重に巡らした環壕集落が成立し、内壕の中には10～15の竪穴住居が建てられて有力者が暮らしていたようだ。また、玉を副葬された子供の墓が内壕内にあることから、すでに社会の階層化に加えてその世襲化も進んでいたと思われる。また、この頃に武器で殺されたと思われる死体が発掘されており、戦いのあったことが推察される。戦いは、もともと朝鮮半島の南部で、水田稲作を行なうのに必要な水や土地をめぐる争いを政治的に解決する手段だったが、これが日本列島でも起こったのだろう。これまで見られなかった農耕社会が成立し、社会に質的变化が起きてきていたのだ。

水田稲作民と在来民との“棲み分け”の状態は250年あまり続き、水田稲作は玄海灘沿岸地域にとどまっていたが、前8世紀の終わりになると九州中部・東部でも行われるようになり、以降、東日本にむかって400～500年かけて徐々に拡散し、前4世紀代には東北地方、前3世紀には関東地方にまで広がっていったという(図6-13)。

6-8. 弥生時代と道具

◆弥生土器と時代区分

弥生式土器の製作技術は縄文式土器に較べて格段に進歩した。器形を整えるためにロクロが使用され、1200℃くらいの高温で焼かれた。この結果、同形のものが大量に生産されるようになった。縄目だった条線文は簡単になり、土器の質は堅く、色も赤褐色となった。

土器は貯蔵用の壺と煮沸用の甕が主であった。壺は口縁部がくびれた壺形で装飾がなされている。甕は甕形で、装飾も施されておらず、食物の加熱に用いられていたのだろう。これ以外にも、食物を盛るために鉢や高杯などが作られた。日本書紀に神代の酒として「八甕酒」が記載されているが、「八甕」とは大きな甕のことである。大型の酒造用の甕も造られていたのだろう。

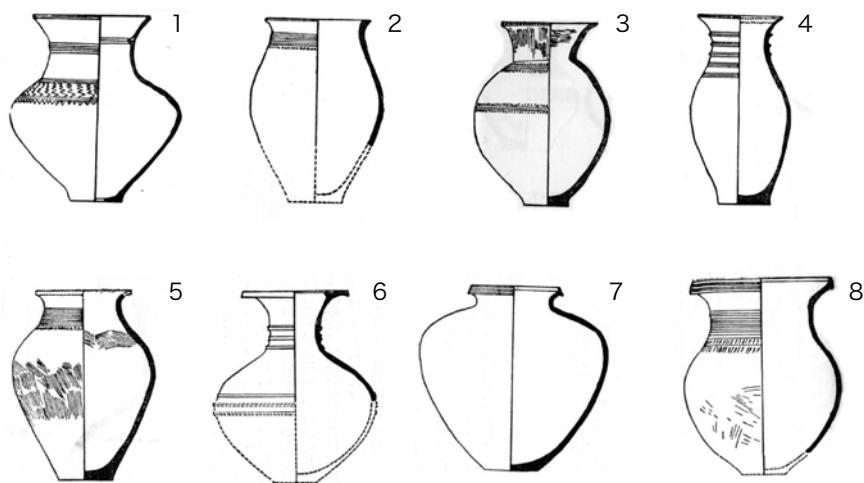


図 6-14 弥生時代の土器(壺)

前期:1(山口県綾羅木), 2(鳥取県上野)

中期:3(広島県中山), 4(鳥取県秋喜), 5(鳥取県上野), 6(山口県土井ヶ浜)

後期:7(岡山県上東), 8(鳥取県古浦)

(和島誠一「弥生時代」より抜粋)

弥生時代は前8～前4世紀の前期、前4世紀～前1世紀の中期、1世紀から始まり3世紀末まで続く後期に大きく分けられており、それぞれの時代区分に特徴ある土器がある。この区分は土器の特徴から分けられたものであり、九州北部で水田稲作が見られる前10世紀後半から前8世紀は弥生早期と位置づけられている。

図6-14に各時代区分に特徴的な壺を比較して示している。いずれも高さ35cm程度のものを選んでいるが、壺1は前期を代表する遠賀川式土器と言われるものだ。口縁部はあまり発達せず、ゆるく外反し、肩部に明瞭な段を持っている。胴はよく張り、胴の最大径の高さは器高の1/2、またはそれよりやや下がる付近にあり、底は大きくしっかりしている。壺2のように肩部がやや不明瞭で中期に近い形のものもある。

中期になると、壺3の様に、卵・球形の器体に漏斗状に開いた口縁部を持ち、頸部直下や上腹部に櫛目による文様のあるものや、壺4、5のように卵形の器体に不明瞭な頸部とゆるく外反する口縁部があるもので、文様も頸部に集中して櫛目やへらによる文様のもの、さらには壺6のように玉ネギ状によく張った器体に平坦な口縁を持ち、頸・胴部に一から四状の突帯を持つものがある。中期は櫛目文が盛んな時期である。

後期には櫛目文土器が九州・東日本に波及した。また、壺7、8の様に、肩の張った器体に比較的長い内傾した頸部をつけ、よく外反した口縁部を持つもので口唇部が肥厚し上方に拡張していて、頸部に竹・貝・木などによる沈線文を口唇部にも沈線文や鋸歯のような三角文様（鋸歯文）をほどこしている。

◆農器具

多様な手段で食料を獲得していたとはいえ、縄文時代の後・晩期（前2500年～前800年）になると西日本を中心に食料供給の割合は採集・狩猟から農耕へ移っていったことはすでに述べたが、農耕はアワ・ヒエなどの雑穀とイモ類などの焼畑農耕を中心とし、その他にもっぱら天水のみに依存する水田（天水田）などを行なう初期的農耕が行われていたと考えられている。弥生時代早期の在来民は水田稲作にはなじみがないにしても、畑作を中心に農耕を営む園耕民である。従って、農機具についてもかなりものを用いていたと考えられる。

玄海灘沿岸の水田稲作民も木製農具を使って耕していた。クワやスコップの様な使い方をするスキ、水田の表面をかきならして平坦にするエブリなどが出土している。また、大量の杭も見つかっている。これら木製農具の加工は石器で行われ、クワの柄は木、刃の部分は加工した石材で作られていたので、在来民が使っていたものと大きな違いがなかった

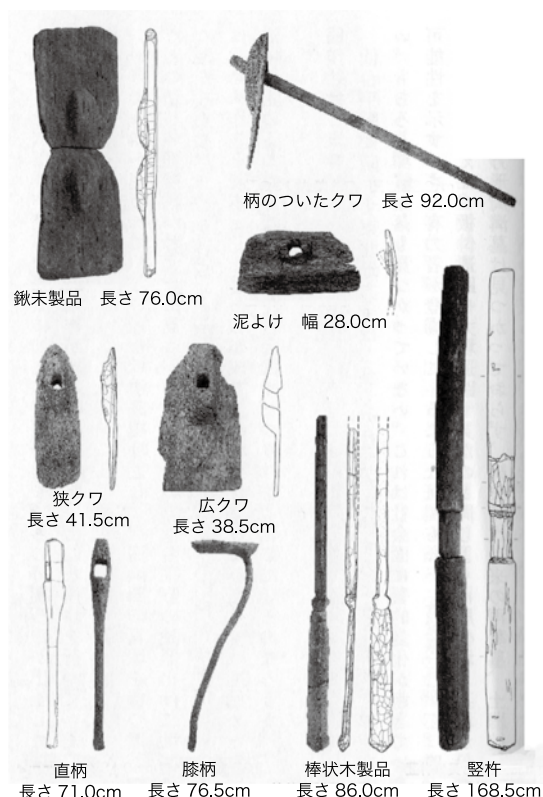


図 6-15 弥生時代（前3世紀）の農具
（仙台市高田B遺跡：藤尾著「弥生時代の歴史」より）

かも知れない。

縄文中期の前4世紀以降には仙台地域でも水田稲作が行われるようになるが、その遺跡から図6-15のような農具が出土している。西日本の農具と共通しているものも多く、短冊形やバチ型の打製石スキが出土して水田と畑作が組み合わさった複合的な農耕を行っていたことが推察される。

◆金属器（青銅器、鉄器）

メソポタミア・古代エジプトでは前3500年頃、中国の黄河上流では前3200年～前2700年頃に青銅器時代が始まる。しかし、日本には青銅器と鉄器がほぼ同時期に大陸より持ち込まれたため青銅器時代は存在しない。弥生最古の青銅器は前8世紀に九州北部に現れるが、まだ、ごく珍しい特別な存在だったようだ。前4世紀中頃になると朝鮮半島製の鏡や青銅器武器が玄海灘地域の有力者の墓の副葬品として納められるようになる。前4世紀後半には国産の青銅器も出現するので、この頃には青銅器づくりの技術も日本に伝わったと考えられる。オリエントでは青銅器は利器（武器）として使われていたが、中国を中心とする東アジア世界では祭器や礼器として祭祀に使われていた。弥生青銅器も基本的には祭器であり、青銅武器もあるが武器として使ったのではなく副葬品などとして用いられていたのだ。

日本の最古の鉄器は愛媛県大久保遺跡から発掘された鉄斧で前5世紀に中国東北部の燕で製造されたものだ。日本では、鉄器は前4世紀前半から利器として使われていたようだが、クワやスキなどは木製だったし、そのための木の伐採・切断、加工など、ほとんどの作業は石器で行われていた。利器と言っても、小鉄器として木製容器の細部の加工などに限定的に使っていた程度と考えられる。前3世紀には鉄器も日本で作られるようになった。しかし、青銅器も鉄器も国産化したとはいえ、その原料は朝鮮半島からのものだった。日本で鉄鉱石を原料に製鉄が始まるのは6世紀後半、銅鉱石を原料に銅製品が作られるようになるのは7世紀であり、それまでは朝鮮半島南部で産出された鉱石が日本の金属器需要を支えていた。

◆石器・木器・玉

上述したように、この時代は青銅器・鉄器とともに石器も用いられていた（金石併用時代）。この時代の特長な石器としては鋭利な刃を持つ石包丁が多く使われた。石包丁は穂の稲先をつみとる穂首刈りの際に使われた。織物をつむぐ時、はずみ車として用いられていた紡錘車も石器が用いられていた。

容器（鉢・椀・皿など）、弓などの武器、舟、農耕具（クワ・スキ・馬スキ・キネ・ウス・田下駄・田舟など）などは木製品が用いられていたが、その加工のために利器として金属器を用いることによってこれらの木器が容易に作られるようになった。

この時代には、玉製品（碧玉や硬玉など）、ガラス製の装飾品も作られるようになっていた。

6-9. 弥生時代の社会と衣・食・住

水田稲作は単にコメづくりとしての手段だけではなく、環濠集落を基本とした統合社会そのものを支える生産基盤を担っていた。それは、共同作業を行い、収穫物を分かち合う社会であったが、有力者のもと秩序化された階層社会でもあり、銅剣や鏡などの青銅器を至高の祭器として祭祀を行う社会でもあった。

弥生時代中期以降の遺跡として大規模発掘されたのが佐賀県の吉野ヶ里遺跡である。弥生時代の階層としては、国の支配者として行政的な運営を担っていた「大人」、一般的な身分の「下戸」、もっ



図 6-16 弥生中期の施設の大規模復元（吉野ヶ里歴史公園）

(A) 大規模な復元の遠景

(B) 支配層の居住区「南内郭」の復元の様子

中には王・支配者層の住む竪穴式すまい、煮炊き屋、集会の館、物見櫓などがある。

とも下位の階層の「生口」に分類される。吉野ヶ里歴史公園では当時の施設の大規模な復元を行っている（図 6-16）。

北・南内郭が大人層の居住区と考えられている。その居住者達は司祭者的性格を持ち、かつ政治・行政を司った者たちであったと推定されている。世俗的な政治支配を担う最高政治権の「王」と王のもとに政治機構を分担して担う「クニ」が政治を支配していたと推定されている。最高政治権者の王は祭祀の統括者としての役割も担っていたと考えられる。南内郭の近辺からは青銅器鋳型が発見されており、青銅器や玉などの祭具の制作や調達を担っていた可能性が考えられる。

北が上位で南が下位という古代中国の考え方に影響を受けていたのか、内郭の南側に一般の人が住む「ムラ」が広がっている。竪穴式住居 3～4 棟に対して共同の高床倉庫が 1 棟ついている。北内郭や南内郭は壕などで囲まれていたが、ムラの区域を囲むような特別な施設はない。

◆衣

陳寿(233～297 年)によって書かれた、中国の歴史書「三国志」の中の「魏書東夷伝倭人の条」に、次のような描写がある。「男は皆、かぶりものをつけず、木綿で頭をまき、衣は横幅の布をもちいて、ただ結んでいるだけで、ほとんど縫ってはいない。婦人は――衣は単衣のように作り、中央に穴をあけて頭を貫いてこれをきる」。

倭人の男が実際に頭に巻いていたのは布ではなく、コウゾなどの樹皮を蒸した繊維だった。衣装は大麻を生地にした貫頭衣だったと考えられている。男性は一枚の横長の布、女性は二つの布を縫い合わせ、長袖と長裾の衣装だったようだ。これは一般の人びと（下戸）の服である。

吉野ヶ里遺跡から何種類もの絹も見つかっているが、これは大人用のものだろう。絹の多くは目が透けていて、下の衣の色・文様や肌が見える上等の透目平絹で、目の詰まったものもあったということだ。しかも、縦糸を茜で、横糸を貝紫で染め分けたものもあったという。

木靴もすでに登場していたが、基本的には裸足であったことが「倭人の条」に書かれている。

◆食

もともと縄文時代から木の実・果物・小動物・魚介類などの狩猟、採集に加えてヒエなどの穀物や大豆など色々なものを食べていた。弥生時代になって、コメが主食となっても多様な食物を食べていたと思われる。物々交換は弥生人から始まった風習であり、コメと魚などの交換を海人と積極



図 6-17 弥生時代の建物（復元）

- (A) 竪穴式住居（弥生中期：吉野ヶ里遺跡）
 (B) 祭祀が行われる主祭殿（弥生中期：吉野ヶ里遺跡）
 (C) 逆台形屋根の高床式建物と大井戸（弥生中期：大阪曽根・池上遺跡）

的に行っていたという。

主食の稲を収穫すると土器に入れ、貯蔵庫としての高床式倉庫に収めた。脱穀には木製のキネやウスが用いられ、コメは土器で煮てかゆとしたり、甑（こしき）で蒸したりして食べた。

「倭人の条」に「生食」と記されているが、これは野菜や魚を生で食べていたことを指す。弥生人が体内に寄生虫を飼っていたことは発掘調査で明らかにされており、「生食」の記述と一致する。中国では戦国時代から漢代にかけて広まるとされている箸はまだなく、弥生人は手づかみで食べていたことが記されている。食物は共用器である高杯に盛られ、各人が小形の高杯（銘々器）によって食べていた。

◆住

弥生時代の建物といえば、竪穴住居、掘立柱建物、高床建物の3つ。竪穴住居は深さ1.5～2.0mの穴を掘り、梯子をつけ、屋根に穴を開けた入口から出入りする（図6-17（A））。床には炉と屋根を支えるための柱の穴があり、ワラの筵などを敷いて暮らしていた。葦やヨシなどの茎を葺いて屋根にした。掘立柱建物は地面を掘り下げずに柱穴を掘って、下端部を穴に埋めて立てた柱で屋根を支えた建物である。土間を床にする場合と、数10cm～1m前後の高さの木の床をつけた建物もある。

高床式建物は人の背丈を超えるほどの高さの木の床をつけた建物で、上がるための梯子か階段が備えてある（図6-17（B））。縄文時代の三内丸山遺跡に見られる高床式建物と比べるとだいぶ進化しているようだ。倉庫として使用する場合には、とくに強度を増すために多くの柱を用いた。銅鐸や弥生土器には高床式建物の絵を描いたものがある。屋根が台形のもの逆台形のものがあり逆台形の場合は棟が大きく張り出すことになるので、さらに支えの柱が必要となる。前52年の年輪年代が出たことで知られる大阪池上・曽根遺跡の祭殿は22本の柱と棟持柱からなり、横19.2m、縦6.9mの巨大な建物だった。同建物の南側には直径2.3mのクスノキをくり抜いた巨大な井戸が隣接していた（図6-17（C））。

6-10. 弥生時代の農耕生活

◆弥生時代の農耕

弥生時代の農耕技術の高さは、稲の籾痕（もみあと）が弥生式土器で発見されたこと（宮城県柞形田貝塚）、多くの木製農具が発見されたこと（奈良県唐古遺跡）で示されるが、静岡県登呂遺跡の発掘調査によって弥生時代の集落・水田の全容が明らかにされている。登呂遺跡は弥生時代後期

にあたる1世紀ごろと推定されている。同遺跡から発掘された銅鐸に粃つきや穀物倉の絵が描かれていて当時の農耕生活が窺える。

まだ、灌漑技術は未発達であったため水田稲作とともに人々はそれまで住んでいた小高い丘から沖積平野の湿潤地に住居を移し、多くの集落が形成されていった。登呂遺跡の場合、沖積地の自然堤防上に立地する集落址、後背低湿の微高地を利用した水田址、さらに森林址とから成り立っていた。

水田址は集落の南東に接する低湿地に存在し、7万5000余平方メートル（後樂園球場グラウンドの約6.5倍）にわたって広がっていた。木杭、矢板などを並べてつくった畔（あぜ）により区画され、堰（せき）を設けた水路が南北に走っていた。遺跡からは、木製の剣・クワ（鋤）・スキ（鋤）・田下駄、石包丁、ウス（臼）、タテギネ（竪杵）、キヌタ（砧：ワラ打ち用農具）などの農具が見ついている。人々は水田を鋤・鋤で耕し、じかに種籾をまいていたのだろう。そして、種まき後も田舟や田下駄を使って、水田の雑草取りなどをしたのだろう。稲が実ると、今のように根刈りではなく、穂首をひとつずつ石包丁で刈っていった。手間のかかる仕事ではあったが、同時に品種の選別に役立ったに違いない。

住居址は平地住居で、12軒が完全な形で発掘された。平面形態は小判形を呈し、周囲に羽目（はめ）板で土留めをした土手を巡らしていた。倉庫は住居址群のなかに4本柱のもの2棟が存在した。その形態は、残存していた木材や銅鐸絵画などから、高床式で屋根の形状は切妻（きりづま）造りと推定され、一木造りのハシゴや鼠の侵入を防ぐ鼠返（ねずみがえ）しなどが備え付けられていた。吉野ヶ里遺跡の場合と同様、人々は竪穴住居や平地式住居に住んでいたが、高床式の倉庫に収穫物を土器に入れて貯蔵・保管していた。

また、丸木弓（まるきゆみ：1本の木や竹でできた簡単な弓）、鹿角（ろっかく）製釣針などの狩猟・漁労具や丸木舟（丸太をくりぬいた船）なども発見されている。農耕と同時に獲物を求めて山や海に出かけていたに違いない。

◆社会の分化

前述したように、農産物の貯蔵が行われるようになると富の蓄積が始まり、蓄積の多少から貧富の差が生まれる。指輪形・腕輪形銅製品などの装飾品などが発見され、社会の階層化に伴う貧富の差はさらに進み、次第に固定されていったに違いない。弥生中期の墳墓の共同墓地の一隅に大陸からの舶載品を主とする豊富な副葬品とともに死者が手厚く埋葬された墓が発見され、集落の支配者の成立を示している。

社会も拡大してゆく流れにある。水田が湿潤地以外にも広がってゆくに従い、多くの労働力を必要とする水利施設の建設などが行われる。新たに生まれた水田は開拓に従事した労働力集団の支配下に置かれることになり、一種の共同体ができあがる。共同体の首長は効率的な生産に向けて自らの権限を集中してゆく。そして、家族集団もこの共同体との関わりのもとに存在するようになる。また、開発が進んで集落や水田が広がってゆくと、同一水源を利用する他集団との接触や利害の対立などが起こる。社会が進化すると様々な局面で調整の必要が生じ、その調整の過程で集団の間に上下関係が作られ、上位の集団の指導者に一層多くの権限が集中し、しだいに支配者としての性格を身につけてゆく。こうして部落國家が形成されてゆくのだ。

◆宗教と風俗

農耕生活が深化してゆくと天候の変化はその年の豊作・凶作につながって今まで以上に大きな意味を持つようになる。太陽・雨・風・河川などに精霊を認めるアニミズムは一層深まり、それらを

神として祭り、崇め、怒りを和らげて豊作を願って祈るようになり、自然神への信仰が生まれる。新春や種まき、収穫のときなどに部落の族長を中心に人々が総出で豊穰を祈願し、感謝する祭礼が行われるようになった。今でも行われている新嘗祭などはこの時代の農耕儀礼がその始まりと考えられる。

ギリシア神話などに見られる西欧の神は、“美の神”、“運命の神”、“戦争の神”、“英知の神”、そして“酒の神”のように属性が明確であるが、日本における神は自然神であり、人々は自然に抱きかかえられ、自然の中に生きてゆくという意識の中で生活していた。この特徴は現代にもつながる日本人の特徴の一つである。自然と対立して自己を意識しない優しさがあると同時に、客観的に自己を意識する厳しさに欠ける傾向にある。

集落は縄文時代の延長で、同族的つながりが深かった。人々は神の意志に従って農事などの行事を決めていたので、神の意志を聞き、人々にそれを伝えるものとしての司祭者の地位が強まってゆき、巫女が神託を聞くというシャーマニズムが広く行われるようになった。司祭者は族長が兼ね、その地位は世襲され、族長は単に政治的・経済的権威者であるだけではなく宗教的な権威も身に付け、支配者としての地位を高めていった。

銅鐸・銅剣・銅矛が各地で発見され、しかも銅鐸が丘陵の斜面から単独で発見されることから農耕儀礼に基づく祭祀が広く行われていたことが推測される。

登呂遺跡からは建築用材、織機、五弦琴、土器などの日常生活をかいまみるような貴重な遺物も多数出土している。

6-11. 弥生時代の酒造り

コメを原料とした中国の黄酒、朝鮮のマッコリ、日本酒はいずれもコウジを用いた照葉樹林文化の流れを汲むものである。しかし、同時に、日本の酒造りの特徴は、①原料はウルチ米、②蒸し米のひと粒ひと粒に麹菌を生やすバラ麹 ③米デンプンを糖化するためのカビは黄麹菌 (*Aspergillus oryzae*) であり、粉末にした麦などを生のまま固めて表面にクモノスカビ (*Rhizopus*) やケカビ (*Mucor*) を生やしたモチ麹 (麦麹) を用いる中国の黄酒や朝鮮 (韓国) のマッコリとは大きな違いがある。

弥生時代に中国の影響を強く受けた水田稲作を基とする農耕文化が朝鮮半島から日本列島に伝播されたとしても、穀物を原料とした日本酒造りの原型はそれ以前にあっただろうというのが筆者の基本的立場である。そうでなければ、黄酒やマッコリと同じように日本酒もクモノスカビやケカビを用いた麦麹の酒でないと不自然でないだろうか。

前回に述べたように、日本列島においては縄文の草創期からヒエの栽培をしていたことを考えれば、まず、ヒエを原料として黄麹菌のバラ麹を用いたヒエ酒造りをしていただろうか。そして、大陸からアワ・キビ・イネが入ってきた縄文後期からは工程を大きく変えることなく雑穀酒を造り、水田稲作によるコメ作りが社会の生産基盤となるにつれてコメを原料とした日本酒造りが行われるようになったのだろう。もちろん、弥生時代以降の大陸からの渡来人は優れた酒造りの技術や知識を備えていたことから、初期の日本酒造りに改良を加えてその品質向上に大きく寄与したことは疑いない。

照葉樹林とは常緑の広葉樹が主体の森林であり、温暖で夏に雨の多く降る地域に成立して、ヒマラヤ山地から中国南部、台湾、沖縄を経て、日本列島の南西部に至る東アジアの温暖帯に分布する。中尾佐助氏はコウジ (カビ利用) による穀物原料の酒造りは照葉樹林文化の代表であると指摘されておられる。そして、照葉樹林地帯における雑穀の共通分母的役割を果たしたのがシコクビエであり、シコクビエによるコウジ造りが酒造りの始めであるかと推定されておられる。

シコクビエとヒエとは同じイネ科ではあるが、異なる属の植物であり、外観も異なるし、シコクビエは主に粉食で食べられ、ヒエは粒食で食べられる。加熱した穀粒にカビが生えれば“バラ麴”であり、カビは日本列島になじみの深い黄麹菌である。照葉樹林文化の代表であるコウジ（カビ利用）による穀物原料の酒造りが日本列島での酒造りにきっかけを与えたとしても、ヒエを加熱粒食していた日本列島ではバラ麴のヒエ酒を造ったとしても不思議ではないだろう。

前にも述べたように、効率的な生産方式である水田稲作とその文化は日本列島にすぐには広まってゆかなかった。まず、玄海灘沿岸で200年の間とどまっていた。その後、徐々に拡大してゆき、東北・関東地方に広まるには400年～500年を要している。これは一方的な武力制圧による拡大ではなく、それまでの13000年の間培った縄文文化との融合による拡大だったことを意味しているのではないだろうか。水田稲作とその文化が東日本に拡大してゆく過程で、水稻の酒は「日本の酒」として定着していったに違いない。

政治的意図を持った武力を背景とした拡大であれば、もっと迅速に広まる例はローマ帝国の英雄カエサルがガリア遠征に見られる。当時、ヨーロッパ西部のガリア地域（フランス・ベルギーとドイツ・オランダ・スイスの一部）はケルト民族に支配されていた。彼らはビールを愛飲していた。カエサルはガリア地域をローマ化するため、前58年から前51年まで8回の遠征を行った（図6-18）。協力する部族を優遇し、敵対する部族を制圧することを繰り返した結果、きわめて短期間にガリア地域はローマ化され、ローマ文化の影響を受けてガリイはワインを愛飲するようになった。世界の歴史を見ても、多くの場合、武力を通しての制圧であり、その結果の制圧地域への文化の浸

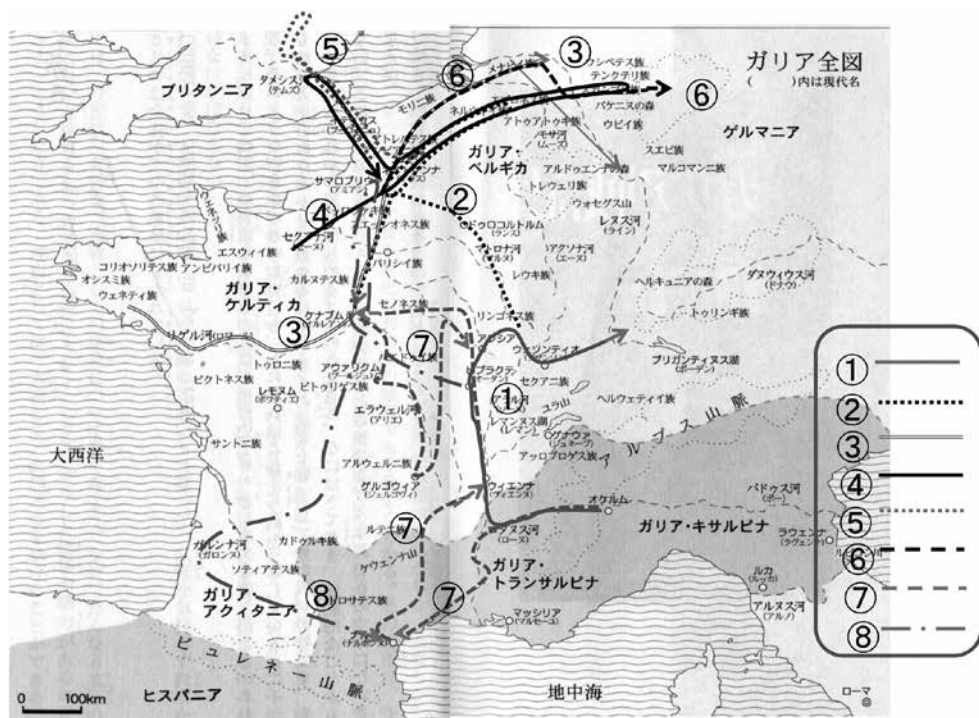


図6-18 カエサルの遠征経路

カエサルは南仏のガリア・トランスアルピナを拠点として遠征を繰り返し、反抗するゲルマンをライン川以北に追いや、ガリア地域を短期間にローマ化した。なお、この図は「酒たちの来た道⑤」でも用いた。（「ガリア戦記」に遠征経路を書き入れた）

透である。弥生文化の日本列島への浸透ぶりは特異な例なのだろう。

想像をたくましてさらに述べることを許して戴けるなら、水田稲作を生産基盤とする弥生社会は物質中心の効率的な組織運営の出発点でありその先に現代がある。社会の有りようを縄文社会から現代に向けて大きく舵をきったターニングポイントは水田稲作の伝来に始まって日本列島への拡散が終わるまでの前10世紀後半から前3世紀の間だろう。この間、ゆっくりと弥生文化が浸透していった結果、それまで育まれた縄文文化と融合して日本列島ならではの新しい社会の形ができあがり、そのことは現代の日本社会の有りように少なからず影響しているのではないだろうか。そして、その一つの例が日本酒造りであったのではないだろうか。

◆弥生人の飲酒の様子

「三国志」の「魏志倭人伝」に3世紀前半の日本の政治・産物・風習が記述されているが、その中に「倭国の酒」を伝える箇所が2箇所ある。一つは葬儀の習俗としての飲酒場面について述べており、「亡くなると10日ほど喪にふくす。肉を食べず、喪主は哭泣し、他人はそばで歌舞飲酒する」とある。もう一つは「その宴会は父子や男女の区別なく集まり、みな酒を好む傾向にある」ということであり、弥生の後期にこれほどまでに酒が日常に位置づけられているのだ。水稻の酒の普及に伴って、縄文中期以降の液果酒・木の実の酒・口かみ酒、縄文後期の雑穀酒は急速に脱落していったものと思われる。

◆記紀に見る神話時代の酒

日本の歴史についての最古の記述書は日本書紀であり、古事記である。いずれも奈良時代に書かれたものだ。日本書紀は720年舎人親王による最古の勅撰の正史であるし、古事記も稗田阿礼と太安万侶が天武天皇（位：673-686）と元明天皇（位：707-715）の勅によって編纂したものであることから両書とも朝廷を中心とした稲作農耕民の世界観に貫かれている。そして、古代人はみずからの拠り所を神話に託した。それは高天原神話・出雲神話・筑紫神話の3つに分けられるが、日本書紀や古事記に述べられた神話は天皇を中心とした物語にまとめ直されたに違いない。しかし、

表 6-4 日本書紀に登場する酒の種類

1	八塩折りの酒	やしおおりのさけ	巻第 1 神代上 第 8 段（本文）
2	八甕酒	やはらのさけ	巻第 1 神代上 第 8 段（一書第 2）
3	毒酒	あしきさけ	巻第 1 神代上 第 8 段（一書第 3）
4	酒	さけ	巻第 1 神代上 第 8 段（本文）
5	酒	おおみき・みき	巻第 8 仲哀天皇 2 年（340）6 月 10 日 ほか
6	天甜酒	あまのたむざけ	巻第 2 神代下 第 9 段（一書第 3）
7	神酒	みわ・みき	巻第 5 崇神天皇 8 年（291）12 月 20 日
8	味酒	うまさけ	巻第 5 崇神天皇 8 年（291）12 月 20 日
9	醇酒	からきさけ	巻第 7 景行天皇 12 年（318）12 月 5 日
10	御酒	みき	巻第 9 神功天皇 摂政 13 年 2 月 17 日
11	神酒	くし	巻第 9 神功皇后 摂政 13 年 2 月 17 日
12	醴酒	こざけ	巻第 10 応神天皇 19 年（387）10 月 1 日
13	水酒	みづさけ	巻第 11 仁徳天皇 62 年 5 月
14	旨酒	うまざけ	巻第 15 顕宗天皇即位前紀 2 年（485?）11 月

同時に両書から古代の酒造りにについての知見が得られるのも事実だろう。

神話によると、男神イザナギノミコトと女神イザナミノミコトが結婚して日本の国土を生み、イザナミノミコトの死後、イザナギノミコトは太陽神で女神である天照大神を生み、高天原を治めさせた。天照大神は孫のニニギノミコトに命じ、日向の高千穂に天降らせ、その3代後のカムヤマトイワレヒコノミコトは東征の軍を起し、紀元前660年に大和の橿原神宮で初めて天皇の位についた。これが第1代の神武天皇であるという。しかし、現在、史実などから実在の天皇は紀元後300年ごろに大和朝廷を成立させた第10代の崇神天皇からだろうと考えられている。

こう考えると、弥生時代は記紀の中では神話や物語に相当する時代であり、神話の中で酒づくりがどう記述されているかは弥生時代の酒を知る上で大変興味深いことになる。加藤百一氏は日本書紀に登場する酒に関係深い語を詳細にまとめられておられる。それによれば、酒の種類に関しては表6-4に記載した14種類の語だという。そのうち、「神代の時代」に相当する弥生時代に登場する酒は「八塩折りの酒」、「八甕酒」、「毒酒」、「酒」、「天甜酒」の5種類であり、残りは次時代の古墳国家以降に登場する。

水田稲作に伴って社会の秩序化・階層化が進むと祭祀の執り行いも複雑で権威化されていったのだろう。神に捧げる酒も特別なものとして造られたに違いなく、「天甜酒（あまのたむぎ）」はそのよい例である。

日本書紀（神代の部）の日向神話の中で「（狭名田の）田の稲を以て、天甜酒を釀（か）みて嘗（にいなえ）す」と語られている。「天甜酒」とは「天の美酒」ということである。また、「狭名田」は神稲をつくるために占いで決めた田であるとのことだ。神様へのお供えのための酒造りの田は通常の食飯用の田と分けられていた。狭名田で作られた稲は酒だけでなく、お供え用の飯にも使われていただろう。

記紀、風土記、万葉集などでは、酒をつくることをカム・カミといい、「釀」の字をあてている。カムということから、「嚙む」と解釈して天甜酒を口かみ酒と解する人がいるがこれは間違いと考えられている。カム・カミ（ス）はカビなどに由来しており、穀物麴と深い関わりがある。

嘗（にいなえ）は新穀を意味するニイとアエ（饗）からの約言である。新嘗は、その年の狭名田で収穫した新穀でつくった御食（みけ）と神酒（みき）とを神前にお供えした後、神様と共食共飲する祭りで、農耕儀礼のうちで最も重要視されている。この神祭は今でも宮中で行われており、新嘗祭のしきたりを守って天皇によって行われており、「勤労感謝の日」として国民の祝日になっている。

米を原料としてカムタチ（米麴）を利用して造られた天甜酒は、麴による糖化や野生酵母による発酵が充分に進んでいたとは思われないので、おそらく今日の甘酒のように甘味を残し、酸味の強い濁酒様の酒であったと考えられている。

日本書紀や古事記の出雲神話「八岐の大蛇」に「八塩折りの酒」が記されている。「八」は「たくさん」を意味する数である。「塩」は熟成もろみを搾った汁のことであり、「折り」は幾度も折り返すことを意味している。したがって、「八塩折りの酒」とは、何度も何度も繰り返して造った酒のことであり、現在、「重釀酒」と呼ばれている酒を指している。この酒は、発酵を終えたもろみを搾って粕を捨て、酒の中へ米麴と蒸し米や固がゆを仕込む。このもろみが発酵すると濾別し、また、酒の中へ米麴と蒸し米や固がゆを仕込む。この工程を繰り返すことによって天甜酒よりはるかに濃い酒をつくることができる。人に仇なす大蛇は畏れ多い神として恐れられていたので手を多く加えた酒で饗応しようとしたのだろうが、八塩之酒は弥生時代にはまだ造られていなかっただろう。記紀の編集者がおそらく想像して出雲神話の中に組み入れたものと考えられる。

日本書紀（神代紀）の出雲神話の大蛇退治に「八甕酒」が登場し、「衆菓（あまたこのみ）を以て、酒八甕を醸め」と語られている。「衆菓」は米ではなく液果類か果実類のことであり、「八甕」とは大甕のことである。「八甕酒」は液果類か果実類を原料とした醸造酒に違いない。縄文中期から縄文人は山ブドウなどの醸造酒を楽しんでいたという指摘もあるが、それに符合する記録である。

同じく、日本書紀（神代紀）・出雲神話に、大蛇を退治するために「毒酒（あしきさけ）を醸みて飲ましむ」とある。この場合の「悪酒」とは「毒入りの酒」ではなく、多分、「できの悪い酒」のことだろう。さきの「八塩折之酒」の場合や「八甕酒」も、大蛇をもてなすというより酔い潰してやろうという意図が見え隠れする。大蛇に対する嫌悪の情は奈良時代になって記紀編纂にあたった者の思いが込められているが、おそらく縄文・弥生時代には、ひたすら恐れ多いものとして畏敬の念にとらわれていたであろう。

参考文献

1. 浅野典夫：世界史（前近代）（榊学研教育出版，2012年）
2. 五味文彦・鳥海靖（編）：山川日本史（榊山川出版社，2009年）
3. 藤井慎一郎：弥生時代の歴史（講談社現代新書，2015年）
4. 和島誠一（編）：日本の考古学3「弥生時代」（河出書房新社，1985年）
5. 加藤百一：日本の酒5000年（技報堂出版，1987年）
6. 坂口謹一郎（監），加藤辯三郎（編）：日本の酒の歴史（研成社，昭和52年）
7. 中尾佐助：栽培植物と農耕の起源（岩波書店，1966年）
8. 福永武彦（訳）：現代語訳日本書紀（河出文庫，2005年）
9. 福永武彦（訳）：現代語訳古事記（河出文庫，2003年）
10. 加藤百一：「日本書紀」に現れた酒（1），日本醸造協会誌 **103**(5): 337-347, 2008.
11. ユリウス・カエサル（中倉玄喜訳・解説）：ガリア戦記（上，下）（榊PHP研究所，2013年）

第3章 アドベンチストの長寿（他の人との比較）

ゲリー E. フレーザー (Gary E. Fraser) *¹ 訳: 山路 明俊 (Akitoshi Yamaji) *²

私達にとって寿命は、最も重要な関心事の一つである。しかし、これは、死を目前にしたほんの短い時間を除いて、良好な生活の質（QOL）と個人の健康が伴うことが必要であると多くの人が認めている。ベジタリアンは、他者より長生きであり、また、恐らく、良質な QOL を有していると見られる。

より厳密な QOL の証明は、今後の研究を待たねばならないが、これまでの経験に基づいた予測では可能である。非ベジタリアンに多く見られる死亡原因のいくつかは、死亡前の長期間の疾病をまねくものと同一の障害である。事実、ベジタリアンのアドベンチストは投薬が少なく、非ベジタリアンに比べ、入院して外科的治療、放射線治療を受けることは少ないようである。加えて、良好な QOL のエビデンスが、大学の卒業生で 1741 名の高齢の非アドベンチストの長期にわたる研究から得られ、健康的な習慣を持つ人は長生きで、これらの人の身体障害は遅くなり、終末期もより短いとの結論が得られている。

以下に示される情報は、アドベンチストは恐らく最も長生きの集団であるとすでに公に述べられている。長寿に加えて他者と比べ、アドベンチストの死因を考察することは有益で、異なる年齢群の寿命の比較調査、長生きしたアドベンチストの性別比や寿命の時間的な傾向を調べることである。



アドベンチストと他者の寿命

アドベンチストが他の人より長生きであるという事実を支持するエビデンスを検証してみよう。全ての計算は最新の生命表の方法を用いる。その方法は、「人工的な生存」集団を規定するが、それらは若年齢から老年そして死までを通過するので、限定された研究期間中、異なる年齢群の実際の死亡率は人口集団と同一の場合に観察される。同じ方法で調べられた他の集団のデータと比較する目的がある場合、この方法は、現在、観察される死亡率の生涯の影響を要約する有用な手段である。この様な生命表から派生する一つの数値は、死亡時の予測平均年齢が寿命である。また、生命表は、生存曲線を作ることができるようにし、特別な年齢まで生き残ることを予測する集団の比率を示している。

寿命は、オランダとノルウェーのアドベンチスト研究から計算され、同時に国際的な実績と比較される。オランダでは、アドベンチストはすでに 26.8 歳の年齢まで生存している（アドベンチスト教会に参加した研究グループの平均年齢）での、死亡時の予測平均年齢は、男性で 79.1 歳、女性で 79.3 歳である。（Berkel and Waard 1983）これらは、同時期（1968 年～1977 年）のドイツの男性の予測年齢より 8.9 歳、女性で 3.6 歳長い。ノルウェーでは、アドベンチストの死亡予測年齢は、男性で 76.4 歳、女性で 79.7 歳で、他のノルウェー人より、それ

*¹ ロマリング大学メディカルセンター教授、*² ニュートリション・アイ

ぞれ、3歳、0.7歳 ($p<0.001$) 長い。解析を19歳以前に教会に加わり、その後、アドベンチストのライフスタイルの利点を十分に取ったノルウェー人のアドベンチストに限定したとすると、アドベンチストの寿命は、男女共、5.2歳長くなる。

アドベンチスト死亡率研究 (AMS) に登録された、47000人のカリフォルニア人のアドベンチストと他のカリフォルニア人との生存比較が、アドベンチスト死亡率研究統計 (1960年～1962年) とカリフォルニア州生命表 (1959年～1961年) を利用して実施された。35歳まで生存した人は、死亡予測平均年齢は、アドベンチスト男性で77.4歳、女性で80.1歳で、他のカリフォルニア人より、それぞれ、6.2歳と3.7歳長い。65歳の時点でも、アドベンチストの寿命は、男性で3.2歳、女性で1.9歳長い。

アドベンチストの研究グループ中の健康的なボランティア効果が他のカリフォルニア人との比較を歪めることはあり得る。カリフォルニア州統計の中で代表される慢性疾患の人は、AMS等の研究プログラムには参加しない傾向がある。このことは、恐らく、初期のフォローアップ期間中の研究グループの計算上の死亡率を不適当に低下させる。しかし、フォローアップ期間中、アドベンチスト研究に登録された被験者のある割合は慢性疾患を患うことになり、登録を選択しなかったアドベンチストのある割合は、慢性疾患のため、死亡するだろう。従って、研究集団とアドベンチスト集団は、慢性疾患の患者率に関しては、益々同様なものになってくる。さらに、

公平な比較を妨げているバイアスは、最終的に消滅する。アドベンチストの被験者が研究に参加し、死亡率統計が最初に使用された時、1958年から2年遅れたことが、健康的なボランティアバイアスが消滅するに十分であったかどうかは明らかでない。しかし、その後のアドベンチスト健康調査 (AHS) データによると、このこ

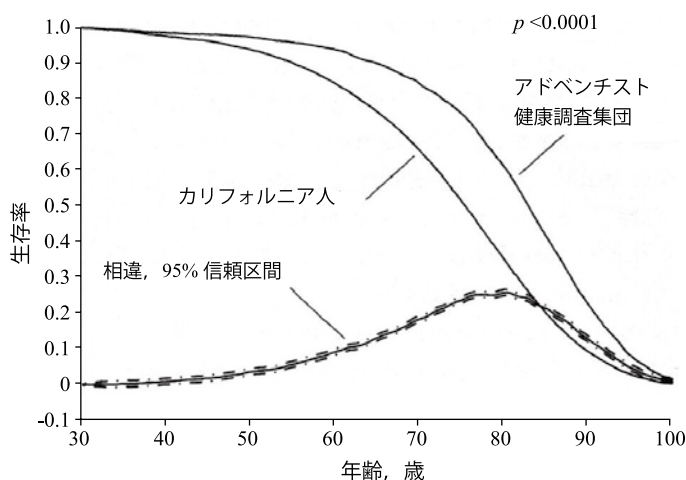


図 4-1 カリフォルニア人とアドベンチスト健康調査集団の生存曲線 (男性)

出典：Fraser GE, Shavhik DJ の Ten years of life expectancy より許諾を得て改変。Is it a matter of choice? *Arch Int Med* 161:1645-1652, 2001, American Medical Association

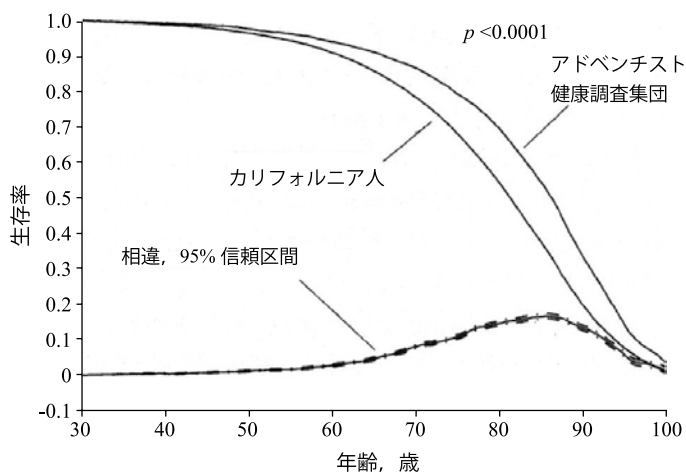


図 4-2 カリフォルニア人とアドベンチスト健康調査集団の生存曲線 (女性)

出典：Fraser GE, Shavhik DJ の Ten years of life expectancy より許諾を得て改変。Is it a matter of choice? *Arch Int Med* 161:1645-1652, 2001, American Medical Association

とは、殆どの問題に対処すべきとしている。

また、われわれは、最近のアドベンチスト健康調査コホートと他のカリフォルニア人の生存データを比較してみた。特に明記しない限り、ここで示されるアドベンチストと非アドベンチストの分析はすでに、30歳まで生存した人を対象にしている。従って、幼児、児童、若年の成人の死亡率は除外されている。他の多くのコホートを含めた、アドベンチスト健康調査の集団に包含されるデータの利点は、年齢には上限がなく、死亡は、最も高齢な人に見られる。1980年と1988年の間に、男性で1657名、女性で2808名の死亡があり、その中で、90歳を超えたのは、男性で17%、女性で24%であった。図4-1と4-2の生存曲線は、明らかにアドベンチストの男性、女性共にどの年代においても、より高い生存率とそれに伴うより長い寿命を示している。アドベンチストの死亡時予測平均年齢は、男性で81.2歳、女性で83.9歳で、カリフォルニア人は、それぞれ、73.9歳、79.5歳である。従って、男性で7.28歳(95%信頼区間, 6.59 ~ 7.97), 女性で4.42歳(95%信頼区間, 3.96 ~ 4.88)の違いがある。

アドベンチスト男性は、平均して、非アドベンチストカリフォルニア女性より長生きで、生存率は、生涯を通じて、非アドベンチスト女性を超えている。(図4-1, 4-2 参照) アドベンチスト男性(95%信頼区間, 82.39 ~ 84.25)と女性(95%信頼区間, 84.89 ~ 96.42)の死亡予測年齢は、83.3歳と85.7歳であるが、非アドベンチストとの差が、9.5歳と6.1歳ある。

健康者被験者バイアスは、これらの分析では再度、起こり得る。アドベンチストのフォローアップの3年間で年齢標準化死亡率比は、徐々に増加したことがすでに確認されているが、これは、健康者被験者効果と結論付けられる。しかし、この期間を除いては上向きの傾向は消失している。従って、アドベンチスト健康調査からの死亡率統計を利用した最近の生命表の比較は、フォローアップの4年~12年(1980-1988)のデータのみで、1985年のカリフォルニアの

非ヒスパニック系白人の死亡率(ヘルス統計センター, 1999年)との比較である。

これらの結果をより広い視点で見るために、表4.1は全てのアドベンチストとベジタリアン・アドベンチストの結果を示していて、以前、報告された国の平均余命は、同じ暦年か少し後の期間に関連する結果となっている。この表では、結果は、誕生時の平均余命である。見てわかるように、平均余命はアドベンチストで大きく、特に男性がそうである。アドベンチスト・ベジタリアンは、最も長い長寿を示していて(表4.3 参照)、他の集団よりかなり超えている。



異なる年齢における寿命差

ある集団が長生きだった場合、全ての年齢で寿命が長いかどうかの疑問が湧いてくるかも知れない。もうひとつの疑問は、通常見られる男女差は、低リスクの集団でも見られるのかどうかである。

アドベンチストのさらなる寿命の延長は、予測ができるが、ベースライン年齢の増加と共に無くなり、慢性疾患に関し、より若い人や中年の人は、アドベンチストであることの有益な利点があると公言できる。これは前章で示唆されていることと一致している。アドベンチストを他のカリフォルニア人と比較した場合、特定の年齢にすでに達している人での予測寿命(余命)は表4.2でみることができる。

最も高齢のグループ(85歳以上)の死亡率についての関心は大きく、不均衡な医療費を費やし、急速に増加しているグループである。(vanWeel and Michels, 1997年) 表4.2の結果は、すでに高齢に達している人々が含まれている。85歳でも、アドベンチストはわずかであるが、有意な生存率を示している。(男性で $p<0.001$, 女性で $p<0.001$)

これらの比較をするもう一つの方法は、アドベンチストと他の集団を比較することで、62歳か85歳に達した比率と65歳から85歳まで

表 4.1 誕生時と 65 歳時の予想寿命（年齢）：カリフォルニア・アドベンチストと国との比較

国（年）	誕生時	65 歳時	誕生時	65 歳時
オーストラリア (1990)	73.9	15.2	80	19
カナダ (1985-1987)	73	14.9	79.7	19.1
デンマーク (1989-1990)	72	14.1	77.7	17.9
フィンランド (1989)	70.9	13.8	78.9	17.7
アイスランド (1989-1990)	75.7	16.1	80.3	19.3
日本 (1990)	75.9	16.2	81.8	19.9
ニュージーランド (1987-1989)	71.6	14.1	77.6	17.8
ノルウエー (1990)	73.4	14.6	79.8	18.6
英国 (1985-1987)	71.9	13.4	77.6	17.3
米国 (1990)	73	14.9	79.7	19.1
カリフォルニア・アドベンチスト (1980-1988) ^a	78.5	19.1	82.3	21.6
ベジタリアン カリフォルニア・アドベンチスト (1980-1988) ^a	80.2	20.3	84.8	22.6

^a：0~29 歳の死亡率ハザードはカリフォルニア州からののである。これらの年齢では、アドベンチストでは得られないため。

出典：Graser GE,Shavlik DJ の許可を得て改変。Ten years of life:is it a matter of choice? *Arch Int Med* **161**:1645-1652,2001.

表 4.2 異なる年齢での平均余命（95% 信頼区間）：

カリフォルニアアドベンチスト（1980 年 -1988 年）と他のカリフォルニア人（1985 年）

年齢	男性			女性		
	アドベンチスト	他のカリフォルニア人	差	アドベンチスト	他のカリフォルニア人	差
30	51.15	43.87	7.28	53.94	49.52	4.42
40	41.78	34.78	7	44.12	30.93	4.19
50	32.25	25.96	6.29	34.72	30.71	4.01
60	23.22	18.15	5.07	25.89	22.21	3.68
70	15.14	11.71	3.43	17.52	14.81	2.71
80	8.61	7.2	1.41	10.12	8.79	1.33
85	6.36	5.69	0.67	7.44	6.51	0.93
90	4.69	4.53	0.16	5.35	5.02	0.33
95	3.46	3.42	0.04	3.97	3.96	0.01
100	2.06	2.74	-0.68	2.25	3.06	-0.81

出典：アドベンチストのデータは、アドベンチスト健康調査から。カリフォルニアのデータは、ヘルス統計センターから。

カリフォルニアの死亡は 1985 年で、サクラメントの健康サービス機関（1999 年）

表 4.3 65 歳と 85 歳まで生存した人と、65 歳から 85 歳までの人の比率

国別	男性%			女性%		
	65 歳まで	85 歳まで	65 歳～85 歳	65 歳まで	85 歳まで	65 歳～85 歳
オーストラリア	74.7	17.6	23.6	86.4	38.4	44.5
カナダ	75.1	19.6	26.1	86.3	40	46.3
ドイツ	73.4	14.2	19.3	85.8	31.7	36.9
ハンガリー	60.9	8.2	13.4	79.3	21	26.5
日本	80.8	23.6	29.2	89.5	41.1	45
スウェーデン	78.7	20.4	25.9	88.4	39.8	45
イギリス	75	14.5	19.3	84.6	32.7	38.6
米国	72	19.5	27.1	84.1	39.3	46.7
カリフォルニア アドベンチスト	86.7	41	47.2	89.3	54.4	60.9
カリフォルニア アドベンチストベジタリアン	89.2	48.6	54.4	94.1	60.1	64.6

達した比率を比較することである。(表 4-3 参照) これらの年齢に達したアドベンチストは非常に多く、特にベジタリアンに見られる。例えば、米国の男性で 85 歳に達するのは 19.5% で、アドベンチストのベジタリアン男性では 48.6% に及ぶ。米国女性については、39.35 で、ベジタリアンアドベンチスト女性は 60.1% である。65 歳に達した日本の女性のみがアドベンチスト女性に似通っているが、その後の 20 年以降は、健康度は劣っている。ベジタリアンアドベンチストの結果は、すでに示されてきたことであるが、恐らく、最も長寿の集団であることを形成している。

高齢者の死亡率は、女性より男性の方がかなり高いことは良く知られている。米国は、85-89 歳では 29.6% で、95-99 歳では 21.3% が男性ということに影響している。(1990 年のデータ) アドベンチストと他のカリフォルニア人との比較で、各年齢層での人口中の男性 % が表 4-4 に示されている。

見ての通り、非ラテン系で非アドベンチスト・カリフォルニア白人中で男性の割合は、米国全体よりも少し高いが、カリフォルニアのアドベンチストの高齢者の集団は、他のカリフォルニア人よりも、20 ~ 25% 確実に高い傾向を示している。

非アドベンチストの集団と比較すると、アドベンチスト男性の余命は、アドベンチスト女性を超えているということが推定される。別の言い方をすると、非アドベンチストの死亡時平均

推定年齢の男女差は、非ラテン系カリフォルニア白人は 5.65 歳で、アドベンチストは、わずか 2.79 歳である。アドベンチストの夫婦は、より長い人生を共に過ごすことが望めるのである。



死亡率の短縮

寿命延長が死亡率の短縮になるか、ならないかについて、人口統計学者間で、現在も討議が続いている。これは何を意味しているのだろうか。たとえ、人が最も有益な健康習慣を定期的の実施しているか、有害な環境暴露が最小限としても、超えることのない遺伝的な限界年齢、つまり、個人の生命を i とした Q_i が存在した場合には、死亡率は短縮できる。この上限は、時折、寿命と称される。もし、これが正しいモデルとするならば、健康習慣を改善することで成し遂げられる集団にとってのより長い平均余命は、個人の上限年齢に近いところまで生きている集団でのもっと高い割合を占めることになり、これらのリミットが近づくに従い、死亡率は高くなる。従って、平均生存曲線は、最上部の端のところで二乗となり、死亡率は圧縮されとも言えることになる。極端な一部の人は、理想的なことを考え、短縮された状態は、 Q_i 年齢までゼロの死亡率であり、その後、全ての人は突然死を経験することになる。しかし、もし、殆どの人が死亡時に、 Q_i 年齢に近づいていないとすると、全ての年齢の人々は、生活習慣の

表 4-4 各年齢層での予想男性人口 % :
アドベンチスト (1980-1988) と非ラテン系のカリフォルニア白人 (1985)^a

年齢 (歳)	男性%		
	アドベンチスト	他のカリフォルニア人	アドベンチスト/非ラテン系白人比
30	0.5	0.5	1
50	0.5	0.49	1.02
70	0.49	0.46	1.06
80	0.47	0.39	1.2
90	0.4	0.32	1.25
100	0.31	0.25	0.24

^a この分析は 30 歳の時点で、男女共、同数で開始している。

改善と、より少ない危険な環境暴露から恩恵を受けることになる。そうであるならば、平均余命の増加は、最高齢の段階で生存曲線を一团とすることにはならない。そうして、死亡率の短縮は殆どないか全くない。

アドベンチスト集団、特にベジタリアンは、他よりも長生きで、曲線は二乗であり、また、高齢者の余命は延伸するので、曲線形は変化しないのだろうか。生存曲線形は、経済学的に、統計学で言われるエントロピー関数で表される。曲線が完全に二乗とすると、ゼロ値になり、負の指数関数的な形をした生存曲線の場合は、1.0となる。それは、死亡率の力が一定（全年齢で同じ）の場合、全く正反対を示している。アドベンチストとカリフォルニア男性のエントロピー値は、それぞれ、0.187と0.259である。 $(p<.025)$ アドベンチストとカリフォルニア女性の値は、それぞれ、0.176と0.214である。 $(p=.001)$ 従って、アドベンチストの場合、曲線はやや二乗である。彼らは余命を増加させるので、有益なライフスタイルの差は、少なくとも短縮を生じさせる。特に、若年と中年のアドベンチストは、遺伝的な潜在能力の近くまで生存できるが、実際にどのようにこの潜在能力に近づくかは明確でない。



カリフォルニア

アドベンチストの死因（他との比較）

アドベンチストと他との寿命の違いは、少し、一般的な原因による死亡率の一定の低下に起因するか、特異的な死因のリスクの低下によるのかも知れない。もし、前者が正しいとすると、アドベンチストの死因毎の割合は、他の人と極めて類似したものとなるが、これらの事象は、遅い年齢で初めて現れる。後者が正しい場合、一つの死因の低下は、他の死因の抑制に関して、個人のリスクを軽減することになる。そうして、特異的な原因による死亡率は変化することになる。ライフスタイルは、どのくらい生存できる

かだけでなく、どんな原因で死亡するかを決定するのだろうか。

フォローアップの期間のコホートで実際に観察される特別の原因を元にして、死亡率を列挙することは簡単ではあるが、これは、アドベンチスト集団の現役の人の死亡率の実際の原因特定力を正しく反映しているとは言えない。コホートの参加者の性質は、同じリスクの特徴で始まる理論的なアドベンチスト集団と比較して、男女の特定の年齢に見られる被験者の割合のデータを歪めるかも知れないが、その後は、フォローアップに対する損失無しで、完全に寿命全体を超えて続いていく。（生命表は1手法）幸運にも、ボランティア活動に由来する異なる年齢の被験者の割合のゆがみは、生命表を正しく作り上げるために必要な年齢と性別特異的なリスクや死亡率のハザードを推定する能力を妨げることはない。

アドベンチストと非アドベンチストにとって、年齢と性別特異的な死亡原因は、生命表の一連の多変量解析で計算され、それぞれが、対象のエンドポイントで、特定の死因を有するが、他の死亡原因と競わせることになる。（表4.5参照）これらの解析は、死亡原因の競いを説明する最近の記述的ナンプラメトリックハザード率モデルを用いていて、さらに暴露時は指数となる。結果は、30歳を超えた人の死亡のみを表し、30歳を超えた他のカリフォルニア人の予測死亡原因と比較される。原因を確定するために、同じ死亡証明ICDコードが用いられる。また、アドベンチストに対しては、死亡原因について、2つの異なるリスク行動プロファイルの予測影響が比較される。最初のプロファイルでは、ベジタリアンの状態、ナッツ消費、BMI（体格指数）と運動については、全ての被験者のリスク値は低く、2番目では、これらの変数は全ての被験者でハイリスクとなっている。（表4-5の脚注b参照）

全てのアドベンチストと、他のカリフォルニア人との死亡原因を比べて見ると、多くの違いが見つかる。心疾患についての死亡%は、ア

ドベンチストと非アドベンチストは類似しているが、アドベンチスのがん死については、類似性は低い。しかし、これらのタイプの疾患発症の平均年齢は、アドベンチストではかなり高いことは注目される。アドベンチストの脳卒中は、やや少なそうだが、これらの脳卒中は、もっと高年齢で発生している。慢性閉塞性肺疾患（COPD）死は、アドベンチストでは、あまり一般的でないが、これは、疑いもなく、喫煙しないことによる。アドベンチスト女性の肺炎あるいはインフルエンザによる死亡は少ない

様で、アドベンチスト男性ではやや多いように見えるが、平均すると、非アドベンチストよりも高年齢では、かなり多く発生している。最後に、アドベンチストの糖尿病による死亡は、少ないように見えるが、これは後述のように、恐らく、少なくとも一部はライフスタイルの相違である。

要約すると、アドベンチストは脳卒中による死亡はやや多いようで、心疾患死は同じようで、がん、不測の傷害、COPDや糖尿病は、少ない様であるが、これらの死亡全ては、より高

表 4-5 致死性病因での、平均年齢と病因名称における死亡 %
(特殊なリスク群^bのカリフォルニア・ドベンチスト^aと非アドベンチスト・カリフォルニア人^c)

	全カリフォルニア人		全アドベンチスト		低リスク アドベンチスト		高リスク アドベンチスト	
	%	年齢	%	年齢	%	年齢	%	年齢
(男性)								
<死因 (%)>								
心疾患	39	75.7	40.4	82.9 ^{†††}	30.7	88	44.8 ^{**}	75.5 ^{***}
悪性新生物 (がん)	23.4	71.2	19 ^{†††}	77.9	29.9	85.3	13.8 ^{**}	73.5 ^{***}
脳血管疾患 (脳卒中)	6.6	79.4	8.7 ^{††}	85.8 ^{†††}	11	91	8.2	78.9 ^{***}
不慮の傷害	2.9	59.5	3.5	69.6 ^{†††}	4.7	82.5	3.4	68.3
COPD と関連疾患	5.6	76.3	2.5 ^{†††}	82.6 ^{†††}	0.4	74.6	3.3 [*]	77.7
肺炎とインフルエンザ	4.5	81.8	6.1 [†]	87.8 ^{†††}	10.4	89.1	3.6 [*]	84.2
糖尿病	1.1	73	1.3	81.6 ^{†††}	0.3	80.8	1.3	76.8
(女性)								
<死因 (%)>								
心疾患	38.6	83.1	38.1	86.9 ^{†††}	36	92	41.4	81.1 ^{***}
悪性新生物 (がん)	21.4	71.6	17.2 ^{†††}	75.8 ^{†††}	18.5	80.2	18	73.2 ^{**}
脳血管疾患 (脳卒中)	10.9	83.9	12.2 [†]	87 ^{†††}	16.2	92.7	7.9 ^{**}	81.5 ^{***}
不慮の傷害	1.8	69.4	2.1	73.4	3.1	84.7	1.3	71.4
COPD と関連疾患	4.2	76.4	1.4 ^{†††}	81.3 ^{†††}	1.9	96.7	0.9	80.8 [*]
肺炎とインフルエンザ	5.5	86.2	4.4 ^{††}	90.4 ^{†††}	4.8	94.4	3.2	88.8
糖尿病	1.4	76.9	1.3	81.1 [†]	0.4	74.8	2.3 [*]	84.1

COPD：慢性閉塞性肺疾患

a 全ての結果は、1976 年～1988 年のアドベンチストのフォローアップデータと 1985 年のカリフォルニア非アドベンチストのデータを用いた、多離脱生命表解析からのもの

b 低リスク；肉は 1 以下 / 月、激しい運動を 3 回 / 週、ナッツ 5 以上 / 週、BMI は、3 分位の中、中リスク；肉は 1 未満 / 週、激しい運動を適宜、ナッツは、1 ～ 4 / 週、BMI は 3 分位の中、高リスク；肉 1 以上 / 週、激しい運動なし、ナッツは、1 未満 / 週、BMI は、高 3 分位

c^{*} 高リスクアドベンチストと低リスクアドベンチスト間の比較を示す

† 全てのカリフォルニア人と全てのアドベンチスト間の比較を示す

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$, ††† $p < 0.001$

年齢時に起きている。興味深いことは、異なるライフスタイルを選択したアドベンチストの予測原因の比較である。(表 4-5 参照) このように、単にアドベンチストである効果からライフスタイル構成要素の特殊な組み合わせ効果に至るまで、また、どのように死亡原因に影響するのかの焦点が研ぎ澄まされることになる。ハイリスクの行動スタイルを持つアドベンチストは、非アドベンチストカリフォルニア人に近い結果を示すが、2～4年遅れて死亡が生じる。低リスクの行動スタイルのアドベンチストと比べると、高リスクのアドベンチスト男性の殆どは心疾患で死亡し、がんは少数であるが、両者の死亡は、約12年若くして起きている。

低リスクのアドベンチストは、死亡原因と、かなりの低リスク集団の死亡年齢を研究する誘因となっている。彼らの死亡原因は、他の人と違うのだろうか。非アドベンチストと比較した時、主な違いは、死亡年齢で、一般的な死亡原因については、男性では、12歳～14歳違い、女性では9歳の違いがある。これらの結果は、医学系論文に頻繁に見られる相対リスク統計についてある種の視点を提供してくれる。低リスク群は、どの年代でも死亡原因のリスクが低いが、いずれは死に至る。賢いライフスタイルは、殆どの原因で死亡を遅延することを、この章で示されている解析は明解に示している。アドベンチストの主要な死亡原因は、低リスクのアドベンチストでさえ、他の集団で見られるものと同様であり、彼らの相対比が、少し変化するだけである。



カリフォルニア・アドベンチストの 死亡率と平均余命の時代的傾向

米国の出生時の平均余命は、1900年～1985

年の間にかなりの増加があった(女性で29.32年、男性で24.74年)が、この成果の多くは幼児死亡率の顕著な低下によるものであった。50歳まで生き延びた人の伸び数は、それぞれ、9.4年と5年である。

1960年～1986年の間になると、カリフォルニアでは、誕生時の平均余命は、男女共4.9年増加し、65歳まで生き延びた人は、男性で2.5年、女性で2.9年の増加となった。

カリフォルニア・アドベンチストについて、成人の平均余命はこの様な控えめな伸びなのだろうか。20世紀になり、公衆衛生の改善に寄与した主要な要因は、社会とライフスタイルの要因であるという好ましいエビデンスが出てきた。もし、これらの要因がまだ重要とすれば、カリフォルニア・アドベンチストは、その比較的望ましい健康習慣や社会経済のプロフィールが故に他の人よりも利点が少ないかも知れない。しかし、標準的な生活、社会環境や医学の進歩の継続的な改善は、社会全体に対し潜在的に有効である。これらの要因が長寿に影響するという点に限ると、1960年～1988年のアドベンチストの平均余命の改善は少し、期待できるかも知れない。

上記にあるように、初期のAMS結果(1960～1962)は、すでに35歳まで生き延びたアドベンチストの男女は、それぞれ、77.4年と80.1年との死亡平均年齢を予測していた。近年の同程度のAHSでは、81.8年と84.5年である。従って、35歳まで生き延びたアドベンチストの男女においての1960年代と1980年代初期の平均余命は4.4年の増加との推定が最良であることを示している。このことは、同期間の間での非アドベンチストの男女の平均余命が4.9年と良く似ている。明らかに、長寿のアドベンチスト集団は、平均余命を伸ばし続ける近代社会の力から恩恵を受けている。

野山の花

— 身近な山野草の食効・薬効 —

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

キササゲ *Catalpa ovata* G. Don (ノウゼンカズラ科 Bignoniaceae)

秋も深まり、秋風が心地よく吹き抜ける頃、山裾を歩いていると、寺社の境内などで細長い多くの果実を付けた樹木を見かけることがあります。これがキササゲです。キササゲは高さ5～10mにもなる落葉性小高木で幹も太く、直径が60cmに達するものがあり、葉は桐のようで大きく、やや三角形の広卵円形です。中国原産とされますが日本各地の河川敷など、湿った場所に野生化した帰化植物です。花期は6～7月、淡黄色で内面の奥に紫褐色～暗紫色の斑点のある花を咲かせ、秋に実る果実は細長い蒴果で豆の仲間のササゲ（大角豆，^{きささげ} 豇豆）*Vigna unguiculata* に似ていることからキササゲ（木大角豆，木^{きささげ} 豇豆，^{きささげ} 梓，^{あずさ} 楸）といわれます。日本では「梓（し）」の字は一般に



写真1 キササゲ（花）



写真2 キササゲ（果実）



写真3 キササゲ（楸）の大木



写真4 生薬：キササゲ（梓実）

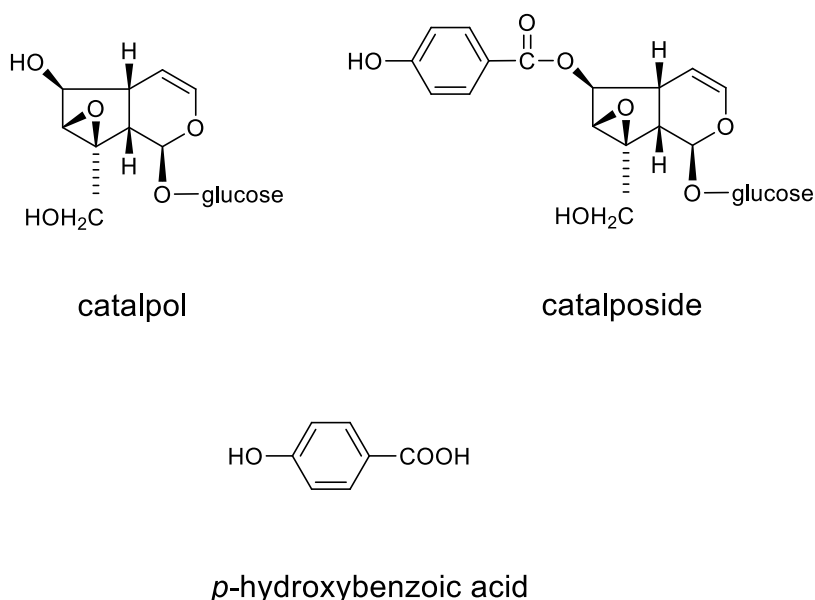


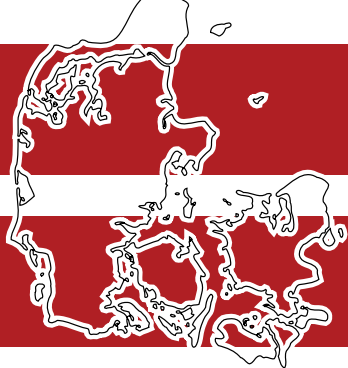
図1 成分の構造式

「あずさ」と読まれ、カバノキ科のミズメ（ヨグソミネバリ）*Betula grossa* の別名とされていますが、本来はキササゲのことです。また、楸^{ひさぎ}はアカメガシワ *Mallotus japonicus* とする説もありますが、本来はトウキササゲ *C. Bungei* のようです。本植物の果実は細長く、長さ約 30cm で房状に垂れ下がり、熟すると先端より 2 裂し、多数の種子を放出します。種子は扁平で両端に糸状の長い毛があり、果皮は薄くて折れやすく、においはほとんどなくわずかに渋い味がします。生薬としては果実が熟し、緑色から褐色に代わる頃、採取し、乾燥したものが良く、全開したものは品質が劣るようです。生薬名をキササゲ（梓実^{しじつ}、Catalpae Fructus）といい、腎炎、ネフローゼ、脚気、低血圧などで浮腫があるとき、利尿薬として使われます。利尿効果はキササゲに南蛮毛^{なんばんもう}（トウモロコシ *Zea mays* の雌花の長いひげ状の花柱^{しはくひ}）を加えるとより効果的だそうです。また、根皮は梓白皮^{しはくひ}といわれ、解熱、解毒剤として皮膚のかゆみやできものなどに利用されます。果実の成分としては、イリド配糖体の catalpol, catalposide など、フェノール化合物の *p*-hydroxybenzoic acid、灰分（カリウム塩）などが報告され、民間薬として利用されてきました。同属植物に花は白色で内面に紫色の斑点があるトウキササゲ、花は白色で紫褐色の斑点があるアメリカキササゲ *C. bignonioides* などがあり、トウキササゲの果実もキササゲ同様、生薬のキササゲとして日本薬局方に収載されています。

民間薬と漢方薬の違い：漢方薬は、根拠となる出典があり、葛根湯、小柴胡湯のように、傷寒論などの古典に記載され、証に基づいて処方され、生薬を一定の割合で組み合わせる用いることが多い。一方、民間薬は理論的な背景はあまりなく、民間伝承によって伝えられ、生薬を単一で用いることが多く、センブリ、ドクダミ、ゲンノショウコなどがよく知られています。

連絡先：白瀧 義明

城西大学薬学部生薬学教室 shiratak@josai.ac.jp



デンマークのキャンディ

今回はデンマークのキャンディーにまつわる話を紹介したいと思います。

デンマーク語で Slik(スリックと発音)や bolsje(ボルシ)を英語にすると、キャンディーとなるのですが、日本でいう飴だけを指す言葉ではなく、甘いグミやキャラメル、Lakris(ラクリス)に至るまで広い意味を持ちます。スリックは、デンマークの子供達だけでなく、大人にも愛されているお菓子です。デンマークのスーパーや、街の商店、ガソリンスタンドに併設のコンビニのような場所に行くと、スリック売り場がかなり広い範囲を占めていることに気づくと思います。日本でも最近ハリボーのグミを見かけるようになりましたが、ここデンマークでは、どこに行っても必ず、様々な種類のハリボーのグミやゼリー商品がたくさん並んでいます。ハリボーはドイツ発のお菓子メーカーですが、デンマークでハリボーを知らない人はいないほど広く普及しています。

ハリボーはパッケージになって小売店で売られている商品ですが、それとは別に、スリックの「量り売り」も、ここデンマークではよく見かけます。スリックの量り売り場には、グミやゼリー、キャラメルや飴、チョコレートや、砂糖菓子など、様々な種類のお菓子が容器に入っており、使い捨てのビニール手袋をはめて、紙袋へ好きなお菓子を好きなだけ入れ、最後に秤で測り、重さに応じて印刷されて出てくるラベルを貼って、レジで会計となります。例えば、金曜日にもなると、「金曜日



スーパーの量り売り場



量り売り場で測ってラベルを貼って会計へ

のスリック」(花金だから特別にお菓子を買う、意味を込めて)だといって、街の商店やスーパーの量り売り場へ、お小遣いを持って買ってくる子供達をよく見かけます。量り売りのいいところは、自分が好きな種類のものを選んで買えること、また、10円くらいの少量からでも買えることでしょう。また、自分で選んで袋に詰める、というプロセスは小さな子供にとってはとても楽しいひと時でもあること

間違いなしです。この量り売りは、映画館などにも、必ずといっていいほどあり、映画のチケットを買ったら、上映場所に行く前にお菓子売り場が必ずあり、そこで量り売りのスリックや、ポップコーン、ジュースを買って上映場所に向かいます。

グミやゼリーには、色々な形がありますが(ハリボーの熊の形をしたグミは日本でもよく見かけます)、指にはめられるような形のものや、バナナの形をしたもの、コカコーラの形のしたもの、いちごの形になっているもの、ながーい紐状になっているものなど、本当に様々です。味も、コカコーラ味やいちご味などいろいろですが、荒めの砂糖がまぶしてあるものや、チョコレートと合体しているものなど、バリエーションが様々です。

さて、ここで一つ外せないのが、ラクリスです。ラクリスはヨーロッパ、特に北欧で愛されているお菓子ですが、あま草のエキスを使った食材で、スリック売り場には、ラクリスと書かれた黒い硬いお菓子の、様々なバリエーションが陳列されて



ラクリス、黒くて硬くてまずい？



ハリボーのグミ



様々なハリボー製品が並ぶ

います。ラクリスは、日本人の感覚からすると、臭く、葉のようで、とにかくまずい、というのが一般見解だと思います。しかしデンマーク人の多くは、ラクリスが大好きで、グミなどと同じ感覚で楽しんでいます。確かに、デンマークの小さな子供は、ラクリスはまだ苦手ということも多いですが、大きくなるにつれ、多くのデンマーク人が好きになる食材です。特に、塩のかかったラクリスキャンディーは、大人にも人気です。デンマークで真っ黒の、硬い物体があったら、ラクリスである可能性が高いので、購入時には注意が必要です。

デンマークのお菓子の代表、スリックを紹介しましたが、日本ではお菓子メーカーが、様々な商品を常に関発して市場に出しているのに比べると、デンマークでは、定番のお菓子が常に陳列されているというイメージです。大人になっても、自分が子供の時から好きだった商品があるというのも、素敵なことなのでしょう。

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

ニューフードインダストリー 第60巻 第11号

印刷 平成 30 年 10 月 25 日
発行 平成 30 年 11 月 1 日
発行人 渡邊 力
編集人 今西 和政
発行所 エヌエフアイ合同会社
〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302
TEL: 042-312-0836 (代表)
FAX: 042-312-0845
振込先: 三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814
多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817
ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク
定価 本体2,000円 + 税 (送料100円)

e-mail: newfood@newfoodindustry.com