

食品加工および資材の新知識

New Food Industry

New food indust. 60 (3): 2018.

3

- オメガ3系多価不飽和脂肪酸の作用を再考する(2)
心血管イベントにおけるオメガ3系多価不飽和脂肪酸の効果
- 霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の肥満細胞の脱顆粒抑制による抗アレルギー効果
- 乳酸発酵工程の数値化に関する試み
— 多様な発酵曲線の相互比較を可能にする手法の開発 —
- 培養による毒素産生型アスペルギルス属かびの検出法
— ジクロロボス-アンモニア蒸気法 (DV-AM法)
- 浮遊糸状菌類の分布調査を寒冷地農業に生かす試み その2
— 漁民の語りから見えるソーシャル・サファリング —

論 説

- オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸の作用を再考する (2)
心血管イベントにおけるオメガ 3 系多価不飽和脂肪酸の効果
Reconsideration of the Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (2)
The Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Events
..... 相良 英憲, 城ヶ瀧 里奈, 高橋 徹多, 石田 智美 1
- 霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の肥満細胞の
脱顆粒抑制による抗アレルギー効果
Anti-allergic effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) by suppression of degranulation on mast cells
..... 小早川 幸子, 神内 伸也, 田口 雄也,
立野 良治, 岩田 直洋, 飯塚 博, 日比野 康英 17
- 乳酸発酵工程の数値化に関する試み
ー多様な発酵曲線の相互比較を可能にする手法の開発ー
..... 豊嶋 瑠美子, 秋山 美展 15
- 培養による毒素産生型アスペルギルス属かびの検出法
- ジクロロボス - アンモニア蒸気法 (DV-AM 法)
..... 久城 真代, 矢部 希見子 21
- 浮遊糸状菌類の分布調査を寒冷地農業に生かす試み その 2
..... 富樫 巖, 本多 信治, 福田 拓巳, 寄谷 明香 28

製品解説

- オリーブ葉抽出物オレアノール -55 の機能性について
..... 古山 啓介, 中村 裕道, 渡辺 剛 37

会 告

- 第 22 回腸内細菌学会プログラム 78

ベジタリアンの健康・栄養学

□ 第3章 アドベンチストと他者のがんの割合

.....ゲリー E. フレーザー, 訳: 山路 明俊 48

連載

□ 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

レンギョウ *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl (モクセイ科 Oleaceae)

.....白瀧 義明 48

□ デンマーク通信 デンマークのパン屋さんのケーキ

..... Naoko Ryde Nishioka 62

解説

□ 機能性物質の養魚用飼料への添加効果-2. タウリン

.....酒本 秀一, 山本 眞司, 村田 修 51

□ グルテンフリーベーカリー食品 その仕込みと加工 (2)

.....瀬口 正晴, 木村 万里子 72

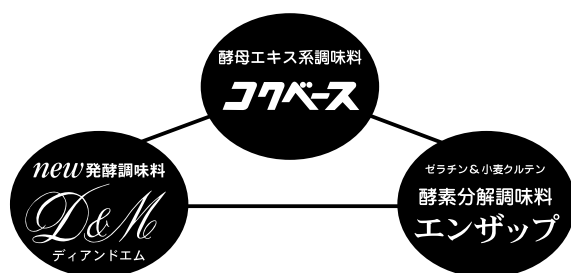
世界の学食 (1)

□ 北京大学

..... 郑 燕, 坂上 宏 88

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

コクベース
ラクティックイーストエキス

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



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

オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸の作用を再考する (2)

心血管イベントにおけるオメガ 3 系多価不飽和脂肪酸の効果

Reconsideration of the Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (2)
The Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Events

相良 英憲 (SAGARA Hidenori) * 城ヶ瀧 里奈 (JYUGATAKI Rina) *
高橋 徹多 (TAKAHASHI Tetta) * 石田 智美 (ISHIDA Tomomi) *

* 松山大学薬学部医薬情報解析学研究室

Key Words : DHA EPA オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸 虚血性心疾患 心筋梗塞

Hidenori Sagara*, Rina Jyougataki*, Tetta Takahashi*, Tomomi Ishida*

*Division of Pharmaceutical information Science. College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University

Reconsideration of the Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (2)
The Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Events

[Key words: DHA, EPA, omega-3 polyunsaturated fatty acids, ischemic heart disease, myocardial infarction]

Abstract

Omega-3 polyunsaturated fatty acids have been shown to decrease the incidence of cardiovascular events, as represented by ischemic heart disease, in conventional epidemiological studies. In addition to their effects on ischemic heart disease, omega-3 polyunsaturated fatty acids are believed to exhibit actions including exhibit triglyceride-lowering, plaque-stabilizing, antiarrhythmic, anti-inflammatory, platelet aggregation-suppressing and autonomic nerve-regulating effects, and it is believed that these effects act together in a compound manner to exhibit a protective effect on the cardiovascular system. This paper outlines the relation between omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular events.

要旨

オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸は、これまでの疫学調査により虚血性心疾患に代表される心血管イベントの発症頻度を減少させる効果が明らかにされている。オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸は虚血性心疾患に対する効果の他に、中性脂肪低下作用、プラーク安定化作用、抗不整脈作用、抗炎症作用、血小板凝集抑制作用、自律神経調節作用などの多面的効果を有すると考えられており、これらの効果が複合的に関与して心血管系に保護的に作用すると考えられる。本稿では、オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸と心血管イベントの関連について概説する。

はじめに

心血管イベントは、致死的心筋梗塞、非致死的心筋梗塞、狭心症に代表される疾患群のことを示すことが多い。臨床試験における心血管イベントには、心不全、脳卒中などを含めて心血管イベントと解析している研究も散見されるが、本稿での心血管イベントは、致死的心筋梗塞、非致死的心筋梗塞、狭心症を主な疾患として論じることとする。

心血管イベントと関連が深いと認識されている物質の一つとして、コレステロールがあげられる。特に、動脈硬化プラークに蓄積している低比重リポ蛋白コレステロール (low density lipoprotein cholesterol, 以下 LDL コレステロール) は、心血管疾患との関連性があると広く認知されている。LDL コレステロールは、一般的に悪玉コレステロールとして認知されてお

り、この血中の値を下げる目的でスタチン系薬剤が多用されている。スタチン系薬剤の投与は、心血管イベントの1次予防、2次予防、ハイリスク群に対する投与のいずれにおいても20～30%の相対リスク減少をもたらすことが報告されている¹⁾。臨床においてLDLコレステロールを下げることは、心血管イベントの低下をもたらすと明らかにされている。しかしながら、これで十分かといえれば必ずしも十分とは言えず、残りの80～70%の症例はスタチンを投与されているにもかかわらず、心血管イベントを起こしているということになる。すなわち、スタチン単独療法には限界があることを示しており、近年この事実は“心血管イベントの残余リスク”として注目されている。

一方、「動脈硬化性疾患予防ガイドライン」では、心血管リスク因子がない患者群に対して

表1 脂肪酸の種類と特徴

分類		主な脂肪酸	代表的な食品	特徴	
飽和脂肪酸	短鎖	酪酸	バター	エネルギー源となる。	
	中鎖	ラウリン酸	ヤシ油・ココナッツ油		
	長鎖	ステアリン酸	牛や豚の脂		
		ミリスチン酸	ヤシ油・パーム油		
		パルミチン酸	バター・牛や豚の脂		
不飽和脂肪酸	一価不飽和脂肪酸		オレイン酸 オリーブ油・菜種油 牛や豚の脂など	血液中のコレステロール減少。酸化されにくい。	
	多価不飽和脂肪酸	n-6 系	アラキドン酸	レバー・サザエ・卵白	必須脂肪酸・胎児、乳児の正常な発育に必要。
			リノール酸	紅花油・ひまわり油・コーン油・大豆油など多くの植物油	必須脂肪酸。血液中のコレステロール値や血圧を下げる。
			γ- リノレン酸	母乳	生体機能の調整。血糖値、血液中のコレステロール値や血圧を下げる。
	n-3 系	DHA (ドコサヘキサエン酸)	サンマ・マグロ・ハマチ・ブリ・ニジマス・ウナギ	抗血栓作用・脳のリン脂質の構成成分。脳機能を高める。	
		EPA (エイコサペンタエン酸)	サンマ・マイワシ・ハマチ・ブリ・ウナギ	抗血栓作用・血液中の中性脂肪を減少させる。	
		α- リノレン酸	シソ油・エゴマ油・ アマニ油	必須脂肪酸。体内でエネルギーになりやすく必要に応じて体内で EPA, DHA に作り変えられる。	

リスクの高い患者群では、心血管リスク因子がない患者群よりも低い LDL コレステロールの目標値が設定されている。これは、LDL コレステロールの“量”がリスク因子として重視されているのではなく、LDL コレステロールの“質”がリスク因子に影響を与えていることを意味している。つまり、これからは心血管リスク因子としての脂質においては LDL コレステロールの量とともにリポ蛋白の“質”に注目すべきといえる。そのリポ蛋白の“質”に影響を及ぼす因子として、多価不飽和脂肪酸のバランス異常がある。具体的には、アラキドン酸 (arachidonic acid : AA) に対するエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid : EPA) の相対的低下に代表される、オメガ6系多価不飽和脂肪酸とオメガ3系多価不飽和脂肪酸のバランス異常である。このバランス異常と心血管イベントの発症率を見ていくことが、オメガ3系多価不飽和脂肪酸の効果を理解していく上で重要となる。

オメガ3系多価不飽和脂肪酸の代表的なものとして魚介由来の EPA やドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid : DHA) と植物由来の α -リノレン酸 (alpha-linolenic acid : ALA) がある。オメガ3系多価不飽和脂肪酸には中性脂肪低下作用だけでなく、抗炎症作用、抗不整脈作用、プラーク安定化作用、血小板凝集抑制作用、自律神経調節作用などの多面的効果を有し、これらの効果を介し心血管系に保護的に働くと考えられている。本稿では、心血管イベントに対するオメガ3系多価不飽和脂肪酸の効果について臨床試験結果を基にしてその有用性を述べる。また、脂肪酸には多種あることから、種類と特徴について表1に示した。

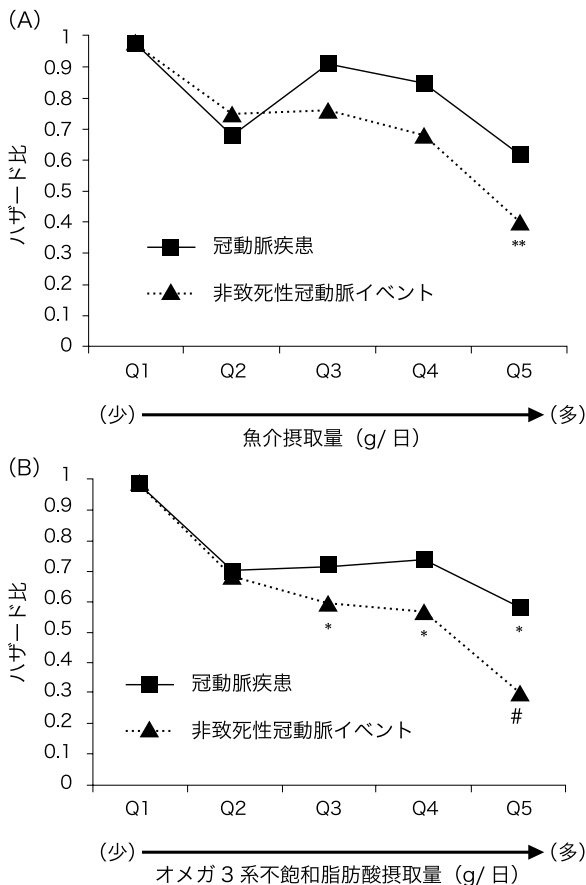
1. オメガ3系多価不飽和脂肪酸と心血管イベントの関係

最初のオメガ3系多価不飽和脂肪酸のエビデンスはイヌイットによる疫学調査によるものである。1970年代に、デンマークのイヌイットでは、デンマークの白人と比較して、心筋梗塞および狭心症による死亡率が有意に低いことが報

告された (白人 34.7% vs イヌイット 5.3%)²⁾。デンマークの白人とイヌイットの食事内容を比較すると、総摂取エネルギーに対する脂肪の割合はいずれも約40%であったが、白人は主に牛や豚から、イヌイットは主に魚や (魚を大量に摂取する) アザラシから脂肪を摂取していた³⁾。また、血清コレステロールエステル中に白人では EPA が0%、AA が4.4%であったのに対し、イヌイットでは EPA が15.4%存在し、AA が0%と著しい差を認めた。これにより、虚血性心疾患による死亡には脂肪の“質”が関与していることが示唆され、オメガ3系多価不飽和脂肪酸と心血管イベント抑制効果が注目されることとなった。

その後1985年に、オランダの50～69歳男性852人を20年間追跡し、30g/日以上魚介を食べる人はまったく食べない人と比べて虚血性心疾患による死亡が約半分であったことが報告された⁴⁾。さらに、アメリカの40～55歳の健康男性を追跡調査した結果では、35g/日以上魚介類摂取を行っている場合には心筋梗塞による死亡の相対危険率は0.56で、冠動脈疾患全体では0.62と、魚介類摂取による死亡抑制効果が認められた⁵⁾。また、アメリカの Physicians' Health Study において、40～80歳までの医師20,551人を対象として最長17年間追跡調査した報告では、週1回以上の魚介類摂取習慣と心臓突然死との関連性が認められた。そして、実際の血清サンプル脂肪酸解析から突然死群のオメガ3系多価不飽和脂肪酸が対照群と比べて有意に低値であることも報告された⁶⁾。その他にも、イギリスにおける心筋梗塞後患者の追跡比較試験では、魚介類摂取指導がある群ではない群と比較して総死亡、虚血性心疾患死が有意に少なくなっていたことも報告されている⁷⁾。

一方、日本人の冠動脈疾患の発症率は欧米に比較して低いものの、近年その増加が指摘されている。国民1人当たりの魚介類消費量と男性における冠動脈疾患による死亡率を国別に比較すると、魚介類消費量と冠動脈疾患死の間には



魚介類およびオメガ3系不飽和脂肪酸の摂取量に応じて5分割分類し比較している。

*: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$ #: $p < 0.001$

図1 日本人における冠動脈疾患および非致死性冠動脈イベントにおける魚介摂取量 (A) とオメガ3系不飽和脂肪酸摂取量 (B) に関するコホート研究 (文献9より引用改変)

明らかな負の相関が認められる。欧米に比べて日本人の魚介類の摂取量は多く、冠動脈疾患の死亡率は低い。このことより、日本人は魚介類摂取量が多いために冠動脈疾患が少ないものと考えられてきた。近年、日本人が摂取する脂肪の割合は増加しており、増加した脂肪の多くがオメガ6系多価不飽和脂肪酸に属する動物性油や植物性油である。それに対し、魚介由来のオメガ3系多価不飽和脂肪酸の摂取量は低下してきている。つまり、本邦における脂肪酸摂取の“質”は近年変わりつつあるといえる。

本邦における総脂肪に対する EPA の推定比と脳梗塞あるいは虚血性心疾患による死亡率の経年的変化をみると、1950年代から総脂肪に対する EPA の推定比が低下するとともに、脳梗塞あるいは虚血性心疾患による死亡が増加している⁸⁾。これは、オメガ3系多価不飽和脂肪酸の摂取の減少が動脈硬化性疾患の増加に関与していることを示唆する所見と考えられる。本邦の Japan Public Health Center-Based (JPHC) Study Chortle I では、40～59歳までの一般人41,578人を対象として約11年間の追跡調査を行っているが、魚介類摂取に準じて分割された5つの集団において、最も摂取量の多い群では最も少ない群に比べて冠動脈疾患のリスクが37%、心筋梗塞のリスクが56%低値であったと報告されている⁹⁾。

2. オメガ3系多価不飽和脂肪酸の心血管イベントに対する効果

オメガ3系多価不飽和脂肪酸による大規模な介入研究は、これまで2つ報告されている。その一つは、イタリアで実施された GISSI-Prevenzione Trial である。報告されている内容によると、3か月以内に心筋梗塞に罹患した男性11,324人を対象として、1g/日のオメガ3系多価不飽和脂肪酸 (EPA+DHA) 摂取群、ビタミンE摂取群、両者の摂取群、対照群の4群に分けて約3.5年間追跡調査したところ、オメガ3系多価不飽和脂肪酸摂取群では対照群に比べ、心血管死亡が30%、総死亡が20%の相対的低下を認め、併用群でも同様であったことが報告された¹⁰⁾。さらに、その後の再解析で、オメガ3系多価不飽和脂肪酸の総死亡や突然死、心血管死の抑制効果が比較的早期から認められる可能性が報告された¹¹⁾。

つまり、オメガ3系多価不飽和脂肪酸の摂取は心血管イベントによる致死率を低下させることが示唆される。

もう一つの報告として、本邦で1996年から

日本人の高脂血症患者における高純度 EPA 製剤による冠動脈イベントの発生抑制効果を検討するため、世界初の大規模無作為比較試験 JELIS (Japan EPA Lipid Intervention Study) が実施された。この結果は 2005 年に学会で発表され、2007 年に論文で発表されている¹²⁾。JELIS では、高コレステロール患者 18,654 例(総コレステロール $\geq 250\text{mg/dL}$, 男性:40~75 歳, 女性:閉経後~75 歳)を対象に、スタチン単独投与群(対照群)とスタチンに高純度 EPA 製剤 1.8g/日を追加投与した群(EPA 群)を約 5 年間追跡調査し、主要冠動脈イベントの発症を比較検討した。その結果、EPA 群では対照群と比較して、主要冠動脈イベントが 19% 抑制され、特に 2 次予防における抑制効果が認められたと報告されている¹²⁾。すなわち、高純度 EPA 製剤の摂取は、コレステロール低下に依存することなく主要冠動脈イベントを有意に抑制させたことを示唆している。JELIS の 1 次予防サブ解析の結果によると、中性脂肪(triglyceride: TG) $\geq 150\text{mg/dL}$ かつ高比重リポ蛋白コレステロール (high density lipoprotein cholesterol :HDL コレステロール) $<40\text{mg/dL}$ の高リスク群では、正常群に比し主要冠動脈イベント発症は有意に高く、この患者群では、EPA の追加投与により主要冠動脈イベント発症が 53% 抑制されたと報告されている¹³⁾。また、2 次予防のサブ解析では、心筋梗塞の既往かつ冠動脈インターベション施行例では、EPA 群において主要冠動脈イベント発症が 41% 抑制されることが報告され¹⁴⁾、この患者群における高純度 EPA 製剤の積極的投与を支持する結果であった。その他にも、サブ解析の結果、脳梗塞再発予防や末梢動脈疾患の冠動脈イベント予防に有効であることが示されている^{15, 16)}。従って、これらの結果は、EPA の摂取が将来の冠動脈イベント発症予防に繋がる可能性を示唆している。高脂血症などのリスク因子がある場合はそれらのリスク因子を排除していくことは必須であることを前提に考えたとしても、EPA などのオメガ3系多価不飽和脂肪酸の積極的な摂取は心血管イ

ベント発症リスクの低下に寄与すると考えてよいであろう。

3. オメガ3系多価不飽和脂肪酸の摂取を推奨すべき対象とは

前項までに示した臨床結果などから、オメガ3系多価不飽和脂肪酸が心血管イベントに対する抑制効果を有することは明らかとなりつつある。しかしながら、多様な社会生活を営む我々にとって、どのような環境にある人々あるいは患者群で強い抑制効果が見込めるのであろうか。

その一つの指標として、EPA/AA 比が考えられる。もともとオメガ3系多価不飽和脂肪酸の摂取が不足している健常者あるいは患者に多く摂取させようとするのは妥当なことである。JELIS 脂肪酸サブ解析で、EPA/AA 比をもとに冠動脈イベント発生リスクを検討した結果では、EPA/AA 比が 0.5 以上の高値群では低値群に比べて冠動脈イベントリスクに有意差を認めなかった。これに対して、0.75 以上の高値群では低値群に比べ冠動脈イベントリスクに有意差が認められた¹⁷⁾。このから、EPA/AA 比 0.75 以上の維持が心血管イベント抑制につながる可能性が示唆されたといえる。つまり、日常から EPA を積極的に摂取する習慣とその持続性が冠動脈イベントリスクの低下に繋がるということである。

また、JELIS の 1 次予防サブ解析では、高 TG および低 HDL コレステロール群でその他の群に比べイベント発生率が高いことが明らかとなった。そして、この群において EPA の冠動脈イベントの抑制効果が強く現われていた。JELIS の糖代謝異常に注目したサブ解析でも、糖代謝異常を有する患者群では血糖の正常患者群に比べて冠動脈イベント発生率が高かった。そして、この糖代謝異常群においては、HbA1c 値や LDL コレステロール値によらず、EPA 群のイベント発生リスクが対照群に比べて 22% 抑制されたことも報告された¹⁸⁾。つまり、これらは diabetic dyslipidemia (糖尿病性脂質異常

症)とも称されるインスリン抵抗性を基盤とした脂質異常症をきたしている患者群が、EPA投与で抑制効果が見込める患者群となる可能性を示しているといえる。加えて、オメガ3系多価不飽和脂肪酸は、高リスク症例の心血管イベントの抑制に有用であるとされている。つまり、LDL コレステロールの量を十分低下させてもイベントを抑制できないような残余リスクが問題となる高リスク症例に対して、リポ蛋白の”質”を改善することでイベント抑制効果をより顕著に発揮させられるといえるかもしれない。

魚介類摂取およびオメガ3系多価不飽和脂肪酸と心血管イベントとの関連性についてはほぼ確立されているものの、日本人が伝統的に欧米人と比べ魚介類摂取量が多いことを考慮すると、欧米の研究結果をそのまま日本人にあてはめることには幾らかの抵抗を感じる。JELISは、欧米人よりも一般的にEPA/AA比が高い日本人

においてもオメガ3系多価不飽和脂肪酸が心血管イベントをさらに抑制する可能性を示したといえる。メタボリックシンドロームの増加などが進む本邦において、diabetic dyslipidemia(糖尿病性脂質異常症)の増加は今後も予想されている。さらに、若者の魚離れが重なることで、脂肪酸の”質”の根幹をなす魚介由来のオメガ3系多価不飽和脂肪酸の重要性は日本人においてもさらに増加すると考えられる。糖・脂肪・タンパク質の摂取バランスを変えることで健康促進を謳う昨今の日本人の食生活において、オメガ3系多価不飽和脂肪酸の積極的な摂取を推奨すべき対象は心血管イベントのリスク因子がまだ少ない若者なのかもしれない。今後さらに健康寿命の延長への関心が高くなりオメガ3系多価不飽和脂肪酸への認知が向上していくことを願うと共に、今後さらなる臨床的エビデンスの確立が期待される。

参考文献

1. Alagona P. Beyond LDL cholesterol: the role of elevated triglycerides and low HDL cholesterol in residual CVD risk remaining after statin therapy. *Am J Manag Care*, **15**: S65-73. 2009.
2. Dyerberg J., *et al.*: A hypothesis on the development of acute myocardial infarction in Greenlanders. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, **161**: 7-13. 1982.
3. Bang HO., *et al.*: The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr*, **33**: 785-807. 1980.
4. Kromhout D., *et al.* The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med*, **312**: 1205-1209. 1985.
5. Daviglus ML., *et al.*: Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N Engl J Med*, **336**: 1046-1053. 1997.
6. Albert CM., *et al.*: Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med*, **346**: 1113-1118. 2002.
7. Burr ML., *et al.*: Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*, **2**: 757-761. 1989.
8. 厚生統計協会：国民衛生の動向，厚生指針. **36**:48. 1989.
9. Iso H, *et al.*: Intake of fish and n3 fatty acids and risk of coronary heart disease among Japanese: the Japan Public Health Center-Based (JPHC) Study Cohort I. *Circulation*, **113**: 195-202. 2006.
10. GISSI-Prevenzione Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet*, **354**: 447-455. 1999.
11. Marchioli R., *et al.*: Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto

- Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation*, **105**: 1897-1903. 2002.
12. Yokoyama M, *et al.*, Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomized open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet*, **369**: 1090-1098. 2007.
 13. Saito Y, *et al.*: Effects of EPA on coronary artery disease in hypercholesterolemic patients with multiple risk factors: sub-analysis of primary prevention cases from the Japan EPA Lipid Intervention Study(JELIS). *Atherosclerosis*, **200**: 135-140. 2008.
 14. Matsuzaki M, *et al.*: Incremental effects of eicosapentaenoic acid on cardiovascular events in statin-treated patients with coronary artery disease. *Circ J*, **73**: 1283-1209. 2009.
 15. Tanaka K, *et al.*: Reduction in the recurrence of stroke by eicosapentaenoic acid for hypercholesterolemic patients: subanalysis of the JELIS trial. *Stroke*, **39**: 2052-2058. 2008.
 16. Ishikawa Y, *et al.*: Preventive effects of eicosapentaenoic acid on coronary artery disease in patients with peripheral artery disease. *Circ J*, **74**: 1451-1457. 2010.
 17. Itakura H, *et al.*: Relationships between plasma fatty acid composition and coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb*, **18**: 99-107. 2011.
 18. Oikawa S, *et al.*: Suppressive effect of EPA on the incidence of coronary events in hypercholesterolemia with impaired glucose metabolism: Sub-analysis of the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). *Atherosclerosis* **206**: 535-539. 2009.

Correspondence to: Hidenori Sagara (e-mail: hsagara@g.matsuyama-u.ac.jp)
Division of Pharmaceutical information Science. College
of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University.
4-2 Bunkyocho, Matsuyama-shi, Ehime 790-8578, Japan.
Tel: +81-089-926-7248, Fax: +81-089-926-7162

連絡先：相良 英憲
松山大学 薬学部 医薬情報解析学研究室
〒790-8578
愛媛県松山市文京町4番地2
TEL:(089)926-7248 FAX:(089)926-7162
E-mail: hsagara@g.matsuyama-u.ac.jp

靈芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の肥満細胞の脱顆粒抑制による抗アレルギー効果

Anti-allergic effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) by suppression of degranulation on mast cells

小早川 幸子 (KOHAYAKAWA Sachiko)¹ 神内 伸也 (KAMIUCHI Shinya)²
田口 雄也 (TAGUCHI Yuya)² 立野 良治 (TATENNO Yoshiharu)¹ 岩田 直洋 (IWATA Naohiro)²
飯塚 博 (IIZUKA Hiroshi)¹ 日比野 康英 (HIBINO Yasuhide)^{2,*}

¹ 野田食菌工業株式会社, ² 城西大学大学院薬学研究科

Key Words : 靈芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) 脱顆粒抑制 抗アレルギー効果

要旨

近年、アレルギー性疾患の罹患者は増加傾向にあるが、食物アレルギーや花粉症などの I 型アレルギー患者に対する治療法は確立されていない。I 型アレルギーの発症を抑えるためには、肥満細胞からの脱顆粒を抑制することが重要であり、様々な食品成分について検討されている。我々は、健康食品である靈芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の脱顆粒抑制作用およびヒアルロニダーゼ阻害活性について、ラット RBL-2H3 肥満細胞を用いて検討しその有効性を検討した。MAK は、RBL-2H3 肥満細胞からの β -ヘキソサミニダーゼの放出を抑制し、その 50% 阻害濃度は 1030 $\mu\text{g/mL}$ であった。さらに、ヒアルロニダーゼ活性に対しては、10 mg/mL で 95.0% の阻害を示した。

これらの結果は、MAK が脱顆粒抑制による抗アレルギー効果を示唆するものであり、MAK が I 型アレルギーに対して有効であると考えられる。

はじめに

近年、アレルギー性疾患の罹患者は小児から成人に至るまで全世代で増加傾向をたどり、食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、喘息、蕁麻疹、花粉症などの流行は深刻な健康上の問題となっている^{1,2)}。これらの疾患は、食の欧米化、生活環境の変化、ストレスの増大など様々な要因からなるため、その発症メカニズムは不明な点が多い。現在、対処療法として抗ヒスタミン薬やステロイド薬が用いられているが副作用が懸念されており³⁾、長期的な体質の改善や予防を目的とした抗アレル

ギー効果などの免疫調節作用を示す薬剤及び食品成分の開発が望まれている。

アレルギーは発症機構から I 型～V 型に分類されている。このうち I 型アレルギーは、肥満細胞または好塩基球に存在する Fc 受容体 (Fc ϵ RI) に IgE と結合し、これに抗原が結合することで脱顆粒が生じ、ヒスタミン、セロトニン、プロスタグランジン、ロイコトリエンなど様々な化学伝達物質が放出されることで、毛細血管の拡張、血流増加、血管透過性の亢進、平滑筋の収縮などのアナフィラキシー反応を短時間で引き起こす。従って、肥満細

* 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

胞はアレルギー予防・治療の重要な標的の一つとされ、脱顆粒抑制薬などが開発されてきた。最近では、食品由来のフラボノイド類やフェニルプロパノイド類においても脱顆粒抑制効果が確認されている⁴⁻⁷⁾。

我々は、これまで霊芝菌糸体培養培地抽出物(MAK)の生理活性について研究を行ってきた。MAKは、マンネンタケの菌糸体をバガスと脱脂した米糠を含む固形培地に接種し、子実体発生直前に培地ごと粉碎し、蒸留水に懸濁、熱水抽出し、珪藻土で濾過した後、濾過滅菌し噴霧乾燥したもので、滋養強壮を目的とした健康食品として長く用いられてきた。MAKの生理活性は非常に広範であり、抗酸化作用⁸⁾やコレステロール低下作用⁹⁾、抗ウィルス作用¹⁰⁾、血糖上昇抑制作用¹¹⁻¹⁴⁾などに加えて、免疫賦活作用¹⁵⁻¹⁷⁾や抗腫瘍作用¹⁸⁻²⁰⁾など免疫系への関与が明らかになっていることから、アレルギーに対しても効果があると考えられる。

本研究では、MAKによる肥満細胞の脱顆粒抑制作用およびヒアルロニダーゼ阻害活性について検討し、その有効性について考察した。

1. 実験材料および方法

1-1. 実験材料

本研究では、野田食菌工業(株)において製造された「MAK」を使用した。霊芝菌糸体ペレットをバガス(砂糖キビ搾汁残渣)と脱脂した米糠の混合固形培地に接種し、約3.5ヶ月間培養後、子実体発生直前に培地ごと破碎し、蒸留水で懸濁、熱水抽出した。抽出物を珪藻土で濾過した後、メンブランフィルター(0.45 μm)にて濾過滅菌し、濾液の噴霧乾燥品をMAKとした。

1-2. 細胞

ラット好塩基球様細胞株RBL-2H3(以下RBL-2H3)は、(独)医薬基盤研究所培養資源研究室・JCRB細胞バンクより購入した。10%牛胎仔血清(FBS, Cell Culture Bioscience, Tokyo)を含むDMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, Invitrogen, Carlsbad, CA)培養液で37°C、5%CO₂

条件下で培養した。

1-3. 脱顆粒抑制試験

脱顆粒抑制試験は、脱顆粒中のβ-hexosaminidaseの放出阻害活性で評価した^{21, 22)}。RBL-2H3細胞を96 well plate(BD Falcon, Bedford, MA)に2×10⁴ cells/wellで播種し、一晚培養した。続いて、MAKもしくは陽性対照群としてクロモグリク酸ナトリウム溶液100 μLを添加し、37°Cで30分間インキュベートした。また、シソの葉エキスパウダー、ローズバツエキスパウダー、エゾウコギエキスパウダー、ベニバナエキスパウダー(以上、日本粉末薬品株式会社、大阪)およびコントロールとしてModified Tyrode (MT) buffer [137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 1.8 mmol/L CaCl₂, 1mmol/L MgCl₂, 5.6 mmol/L glucose, 20 mmol/L HEPES (pH 6.8), 0.1% BSA]を添加した。その後、Compound 48/80 (1 mg/mL; Sigma, St. Louis, MO)を50 μL/well加え、37°Cで4時間インキュベートした。インキュベート後、氷冷して反応を停止させ、培養上清を回収した。残った細胞に細胞溶解液[20 mmol/L Tris (pH7.4), 200 mmol/L NaCl, 2.5 mmol/L MgCl₂, 0.05% NP-40]100 μL/wellを加え、37°Cで10分間インキュベートした。反応後、培養上清および細胞溶解液それぞれ50 μLを96 well plateに移し、37°Cで5分間加温後、基質溶液[0.1 mol/L citrate buffer (pH 4.5)に溶解した3.3 mmol/L p-nitrophenyl-2-acetoamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside (Wako Pure Chemical, Osaka)]を50 μL/well加え、37°Cで25分間インキュベートした。この溶液に2.0 mol/L glycine buffer (pH 10.4)を50 μL/well加えて反応を停止した。一方、50 μLの培養上清および細胞溶解液にglycine bufferを50 μL/well加え、37°Cで25分間インキュベートした後、基質溶液を50 μL/well加えて反応させた。反応終了後、マイクロプレートリーダーを用いて、405 nmの吸光度(Abs)を測定し、以下の計算式から脱顆粒の指標となるβ-hexosaminidaseの放出率を算出した。

β -hexosaminidase release (%) = $100 \times [(\text{Abs supernatant} - \text{Abs blank of supernatant} - \text{spontaneous emission}) / \{(\text{Abs supernatant} - \text{Abs blank of supernatant}) + (\text{Abs cell lysate} - \text{Abs blank of cell lysate}) - \text{spontaneous emission}\}]$

検体の代わりに MT buffer のみを添加したコントロールの β -hexosaminidase 放出率を 100% として、検体の β -hexosaminidase 放出抑制活性を算出した。

1-4. ヒアルロニダーゼ活性阻害試験

ヒアルロニダーゼ阻害活性は、Morgen-Elson 法を一部改変して行った²³⁾。陽性対照群としてクロモグリク酸ナトリウムを用いた。MAK あるいはクロモグリク酸ナトリウムを酢酸緩衝液 (pH 4.0, 0.1 M) で溶解・希釈し、試験管に 0.2 mL ずつ分注した。その後、酵素液 [Hyaluronidase Type IV -S (Sigma) 3.8 mg を 2 mL の酢酸緩衝液に溶解] を 0.1 mL 加え混和し、37°C で 20 分間インキュベートした。酵素活性化剤 [Compound 48/80 (Sigma) 2.5 mg を 5 mL の酢酸緩衝液で溶解] を 0.2 mL ずつ添加し、37°C で 20 分間インキュベートした。その後、基質溶液 [16 mg のヒアルロン酸ナトリウム (Wako Pure Chemical) を 20 mL の酢酸緩衝液で溶解] を 0.5 mL ずつ加え、37°C で 40 分間インキュベートした。次に、0.4N NaOH 溶液を 0.2 mL 添加し反応を停止させた。沸騰水中で 3 分間煮沸し、酵素を失活させ水道水で試験液を室温に戻した。その後、*p*-DAB (*p*-dimethylaminobenzaldehyde, Wako Pure Chemical) 溶液 (5 g の *p*-DAB を 44 mL の酢酸で溶解し 10N HCl を 6 mL 添加した溶液) を 6 mL 加え、37°C で 20 分間インキュベートした。反応後、分光光度計を用いて 585 nm の吸光度を測定し、以下の計算式からヒアルロニダーゼ活性阻害率 (%) を算出した。

ヒアルロニダーゼ活性阻害率 (%) = $[(A - B) - (C - D)] / (A - B) \times 100$

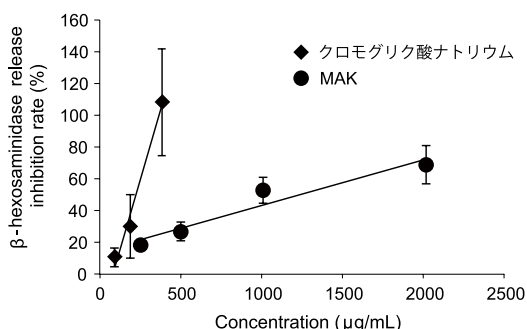


図 1 MAK の脱顆粒抑制効果

[A: 対照の 585 nm における吸光度, B: 対照のブランクの吸光度, C: 試料の 585 nm における吸光度, D: 試料のブランクの吸光度]

2. 結果

2-1. MAK の脱顆粒抑制効果

肥満細胞は、その細胞表面の Fc 受容体に結合した IgE が抗原により架橋されることにより脱顆粒を誘発する。 β -hexosaminidase は、肥満細胞の顆粒中に豊富に存在し、肥満細胞が活性化されると化学伝達物質とともに放出されることから、肥満細胞の脱顆粒の指標となる。本実験では、Compound 48/80 を用いて RBL-2H3 から放出される β -hexosaminidase 放出抑制率を算出した (図 1)。その結果、化学伝達物質遊離抑制薬のクロモグリク酸ナトリウムを加えた陽性対照群では 95, 191, 381 μ g/mL 処理時の放出抑制率が、それぞれ 10.7, 29.7, 108.2% であった。一方、MAK では 253, 505, 1010 μ g/mL において、それぞれ 18.4, 26.9, 52.7% の放出抑制を示した。

2-2. β -hexosaminidase 放出の 50% 阻害濃度の比較

MAK により β -hexosaminidase の放出抑制が確認された。そこで、50% 阻害濃度 (IC₅₀) について、抗アレルギー作用が報告されているシソの葉エキスパウダー、ローズバツエキスパウダー、エゾウコギエキスパウダー、バニバナエキスパウダーのそれと比較した (図 2)。そ

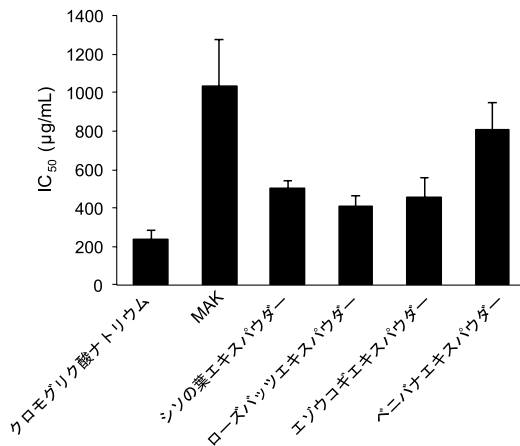


図2 β-hexosaminidase 放出の50%阻害濃度の比較

の結果、クロモグリク酸ナトリウムの IC₅₀ 値が 235 μg/mL であったのに対して、MAK のそれは 1030 μg/mL であった。また、シソの葉エキスパウダー、ローズハッツエキスパウダー、エゾウコギエキスパウダー、ベニバナエキスパウダーでは、それぞれ 500, 413, 453, 809 μg/mL であった。

2-3. MAK のヒアルロニダーゼ阻害効果

ヒスタミンの放出に関与するヒアルロニダーゼの活性について検討した (図3)。その結果、クロモグリク酸ナトリウム 0.5, 1, 2 mg/mL の処理時では、それぞれ 27.3, 58.0, 89.2% の阻害活性を示したのに対して、MAK では 5, 7.5, 10 mg/mL においてそれぞれ 25.4, 64.4, 95.0% であった。

3. 考察

MAK は、霊芝菌糸体を固形培地に接種し、子実体発生直前に培地ごと粉碎して熱水抽出および噴霧乾燥したものであり、健康食品として用いられている。MAK は、霊芝菌由来のβ-グルカンやテルペン、水溶性リグニンなどの培地成分や子実体にはない菌糸体独自の成分も含まれているため、マンネンタケにはない生理活性を持つと考えられている。これま

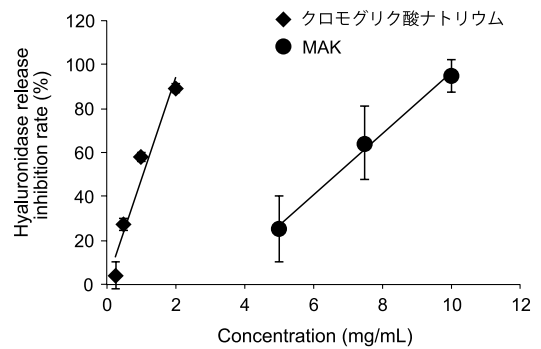


図3 MAK のヒアルロニダーゼ阻害効果

で、MAK の抗腫瘍効果や免疫賦活作用など免疫系にかかわる生理作用が報告されてきたが¹⁵⁻²⁰⁾、抗アレルギー作用について報告がないことから、肥満細胞を用いて脱顆粒抑制効果を検討した。

I型アレルギー反応は、肥満細胞が脱顆粒を生じ、ヒスタミンなどの化学伝達物質を放出することにより進行する。β-hexosaminidase は、顆粒中に豊富に存在し化学伝達物質とともに脱顆粒時に放出されることから、これを指標に脱顆粒抑制効果を検討した。その結果、MAK では、化学伝達物質遊離抑制薬のクロモグリク酸ナトリウムほどの作用ではないものの、濃度依存的に放出抑制が認められた。これまでに、複数の食品、食品成分が抗アレルギー作用を有するとの報告がある。シソの葉はロスマリン酸、ルテオリン、アピゲニン、α-リノレン酸のフェノール類を含有し、また、エゾウコギはクロロゲン酸を、ベニバナはフラボノイドを含有するが、これらが肥満細胞の脱顆粒を抑制し抗アレルギー効果を示すことが明らかとなっている⁴⁻⁷⁾。今回、これら抽出物の IC₅₀ 値と比較したところ、MAK の効果は若干弱いものであった。

続いて、MAK のヒアルロニダーゼ阻害活性について検討した。ヒアルロニダーゼは、炎症時に肥満細胞から遊離・活性化し、ヒアルロン酸を加水分解することにより組織の構造を破壊し炎症を増悪する^{24, 25)}。さらに、ヒスタミンの放出にも関与していることから、アレルギーの発生に関わっていると考えられている。そ

の結果、陽性対象であるクロモグリク酸では 0.5, 1, 2 mg/mL で、それぞれ 27.3%, 58.0%, 89.2% の阻害活性を示す一方で、MAK では 5, 7.5, 10 mg/mL でそれぞれ 25.4, 64.4, 95.0% であった。MAK のヒアルロニダーゼ阻害活性は、クロモグリク酸ナトリウムのそれと比較すると弱いものの、MAK 10 mg/mL では 95.0% の阻害活性を示したことから、MAK は複合的な機序により脱顆粒を抑制し、抗アレルギー作用を示すことが示唆された。

ヒスタミンの遊離抑制と肥満細胞の脱顆粒抑

制および、ヒアルロニダーゼ阻害活性はともに正の相関関係にあり、I 型アレルギーに対して効果を評価する方法である。今回、MAK はどちらの方法においても一定の効果を示したことから、I 型アレルギーに対して有効であるものと判断した。

以上、MAK の抗アレルギー活性として肥満細胞の脱顆粒抑制について報告したが、活性成分の主体や動物を用いた試験による効果については今後の検討課題である。

参考文献

1. Woodruff TJ., Axelrad DA., Kyle AD., *et al.*: Trends in environmentally related childhood illnesses. *Pediatrics*. **113** (4 suppl): 1133- 1140, 2004.
2. アレルギー疾患対策に関する状況の調査（結果報告）：厚生労働省健康局がん・疾病対策課, 平成 28 年
3. 石井保之：アレルギー疾患の予防・治療の展望, 生化学, 81 (3): 209- 217, 2009.
4. Zhu F., Asada T., Sato A., *et al.*: Rosmarinic acid extract for antioxidant, antiallergic, and α -glucosidase inhibitory activities, isolated by supramolecular technique and solvent extraction from *Perilla* leaves. *J Agric Food Chem*. **62** (4): 885- 892, 2014.
5. Jeon JH., Kwon SC., Park D., *et al.*: Anti-allergic effects of white rose petal extract and anti-atopic properties of its hexane fraction. *Arch Pharm Res*. **32** (6): 823- 830, 2009.
6. Komasa Y., Mizoguchi T., Kubota H., *et al.*: Anti-allergic effects of *Acanthopanax senticosus* root extract and *Perilla frutescens* seed extract. *Jap J Compl Alter Med*. **1** (1): 95- 101, 2004.
7. Toyoda M., Tanaka K., Hoshino K., *et al.*: Profiles of potentially antiallergic flavonoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions. *J Agric Food Chem*. **45** (7): 2561- 2564, 1997.
8. 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.
9. Hajjaj H., Macé 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.
10. 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.
11. 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 Compl Alter Med*. **8** (1): 1- 9, 2011.
12. Kamiuchi S., Hatta Y., Miyazato A., *et al.*: Hypoglycemic effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia in type 2 diabetic mice. *Jap J Compl Alter Med*. **7** (1): 999- 1006, 2010.
13. Kamiuchi S., Nishikawa Y., Okamura K., *et al.*: Induction of translocation of glucose transporter 4 in rat skeletal muscle cells by a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia. *Jap J Compl Alter Med*. **12** (1): 19- 27, 2015.
14. Kamiuchi S., Shindo Y., Utsumi Y., *et al.*: Influence of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (WER) on carbohydrate metabolism in the liver of type 2 diabetic mice. *Jap J Compl Alter Med*. **11** (1): 57- 66, 2014.
15. 中川育也, 日比野康英, 大橋康宏ら：マンネンタケ（霊芝）菌糸体培養基より得られるヘテロ多糖・

- 蛋白質画分 (MTP2) によるマウス脾細胞の傷害活性の増強, *Biotherapy*, **13** (5): 513- 515, 1999.
16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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.
 21. Onishi S., Nishi K., Yasunaga S., *et al.*: Nobiletin, a polymethoxy flavonoid, exerts anti-allergic effect by suppressing activation of phosphoinositide 3-kinase. *J funct foods.* **6** (1): 606- 614, 2014.
 22. 堀籠悟, 吉田泉, 玉木千穂ら: RBL-2H3 細胞を用いた食品成分の脱顆粒抑制作用 簡易スクリーニング法, 日本食品科学工学会誌, **55** (11): 535- 540, 2008.
 23. 前田有美恵, 増井俊夫, 杉山清ら: 茶抽出液の Hyaluronidase 阻害活性, 食品衛生学雑誌, **31** (3): 233- 237, 1990.
 24. 大澤謙二, 宮崎都子, 今井啓二ら: カリン (*Chaenomeles sinensis*) 果実のヒアルロニダーゼ阻害効果及びラット肥満細胞からのヒスタミン遊離阻害効果について, *Natural Medicines.* **53** (4): 188- 193, 1999.
 25. 平澤康史, 小里一友, 山田貴男ら: イヌカラマツエキスの抗アレルギー作用ならびにアトピー性皮膚炎に対する有効性の検討, 日薬理誌, **124** (4): 271- 283, 2004.

Anti-allergic effects of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) by suppression of degranulation on mast cells

Sachiko Kohayakawa¹, Shinya Kamiuchi², Yuya Taguchi², Yoshiharu Tateno¹, Naohiro Iwata², Hiroshi Iizuka¹, Yasuhide Hibino^{2, *}

¹ Noda Shokukinkogyo Co. Ltd.,

² Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University

Abstract

Type 1 allergies such as food allergies, cause symptoms by binding IgE antibodies against antigens to mast cells, inducing degranulation of mast cells and releasing chemical mediators such as histamine and leukotrienes. The water-soluble extract of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK), which is commercially available as a nutritional supplement, was prepared from a solid medium composed of bagasse and rice bran overgrown with *Ganoderma lucidum* mycelia. MAK has been shown to have antioxidant, cholesterol-lowering, antiviral, hypoglycemic, immunostimulatory and antitumor activities. However, the effect of MAK on IgE-mediated allergic responses has not been reported. We investigated the anti-allergic effect of MAK using rat RBL-2H3 mast cells. MAK suppressed the release of β -hexosaminidase from RBL-2H3 mast cells. This IC₅₀ was 1030 μ g/mL. In addition, MAK inhibited hyaluronidase activity and showed inhibitory activity of 95.0% at MAK 10 mg/mL. These results indicate that MAK shows anti-allergic effects by suppression of degranulation in combination.

[Key words: Water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK), Suppression of degranulation, Anti-allergic effect]

*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

乳酸発酵工程の数値化に関する試み

—多様な発酵曲線の相互比較を可能にする手法の開発—

豊嶋 瑠美子 (TOYOSHIMA Rumiko)^{1,2} 秋山 美展 (AKIYAMA Yoshinobu)²

¹ 聖霊女子短期大学, ² 秋田県立大大学院 生物資源科学研究科

Key Words: 乳酸菌 発酵乳 発酵 工程 温度 時間曲線 比較

はじめに

発酵乳等の製造においては、発酵工程の工程管理指標として発酵乳の酸度測定がなされる。酸度を経時的に測定することによって酸度—時間曲線が得られるが、この曲線は用いる乳酸菌種、発酵温度、基質濃度等の種々の要因によって異なった曲線になることが知られている。そのため、発酵工程を管理するために発酵条件ごとに酸度—時間曲線を求める必要がある。そこで、酸度—時間曲線の特徴を数値化し、一元的なパラメータで表現することが出来れば発酵の進行を予測しプロセスを最適化するのに有効であると考えられる。一般に乳酸菌の増殖過程は、誘導期、対数増殖期、定常期に分けることができる。これらの過程の開始期および終了期と対数増殖期の速度（発酵速度）は乳酸発酵工程における重要なパラメータとなる。これらのパラメータを一元的な手法で表すことができれば様々な発酵曲線の相互比較が可能となる。

われわれは、酸度—時間曲線の微分解析によって乳酸発酵工程を一元的なパラメータで表現できる可能性を見出した。この手法を用いれば任意時間における到達酸度の推定や発酵温度を連続的に変える温度可変発酵などの複雑な発酵工程の設計が容易になるものと考えられる。日本の発酵乳市場では健康志向の高まりを背景として、発酵乳に一般的な栄養

素摂取や整腸作用を期待するだけでなく、新規機能性を付与した発酵乳の研究開発が進んでいる。本稿で紹介する酸度—時間曲線の一元的なパラメータを基にして、多様な発酵パターンを示す複数の乳酸菌を用いた多段階温度発酵法を導入することが可能となり、官能特性や生理機能性の高い発酵素材の開発等にも資するのではないかと考えている。

1. 発酵工程における主要パラメータの抽出

微生物の増殖曲線を表す式として Monod 式が知られている¹⁾。Monod 式は、N を単位体積あたりの微生物数、S を基質濃度、t を時間とし、 μ と k を定数とすると次式のように書き表せる。

$$\frac{dN}{dt} = \mu \frac{S}{k + S} N$$

Monod 式は微生物の増殖を表す代表的な実験式として多くの研究者に用いられてきたが、Kanna ら²⁾ も述べている通り Monod 式は経験的に得られた式であり、その有効性について統計的な検討は報告されていない。そこで、われわれは多様な発酵曲線の相互比較を可能にする新しい手法を開発するために酸度—時間曲線の微分解析によって発酵工程の主要な三つのパラメータ（対数増殖開始期、発酵速度、対数増殖

表 1 供試乳酸菌の名称および菌種

乳酸菌名称	菌種
LKM512 菌 (協同乳業株式会社)	<i>Streptococcus thermophiles</i>
	<i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i>
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>Bifidobacterium animalis lactis</i>
ABCT 菌 (タニカ電器株式会社)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (GL-1)
	<i>Bifidobacterium longum</i> (BL-730)
	<i>Lactobacillus casei</i> (CS-107)
	<i>Streptococcus thermophiles</i>
カスピ海菌 (株式会社リジエールドーレ RD) ケフィア菌 (タニカ電器株式会社)	<i>Lactobacillus lactis subsp. cremoris</i>
	<i>Lactococcus lactis</i>
	<i>Lactococcus cremoris</i>
	<i>Lactococcus diacetylactis</i>
	<i>Leuconostoc cremoris</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>Zygosaccharomyces florentinus</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

終了期) の抽出を試みた。

1-1 試料

使用した乳酸菌を表 1 に示す。『明治おいしい牛乳』(株式会社明治) を基質とし、LKM512 菌 (協同乳業株式会社)、ABCT 菌、ケフィア菌 (タニカ電器株式会社)、カスピ海菌 ((株) リジエールドーレ RD) を用いて発酵乳を作製した。

1-2. 発酵乳の作製

ヨーグルトの作製は静置型ヨーグルトの製造工程を参考にして一部を改変した。発酵温度は、LKM512、ABCT 菌は 39、42、45、48℃とし、ケフィア、カスピ海菌は 24、27、30、33℃とした。牛乳に乳酸菌を添加し、温度がそれぞれの発酵温度になったことを確認したのち乳酸菌を添加した。添加量は牛乳の 0.2% (w/w) とした。

1-3. 酸度の測定

発酵工程の 0-48 時間の間にサンプリングし、酸度滴定を行った。酸度滴定は 0.1 N 水酸化ナ

トリウム溶液を用い、指示薬はフェノールフタレイン溶液とした。この結果を基にそれぞれの酸度-時間曲線を作成した。

1-4. 微分解析

グラフ作成・データ解析ソフト Origin Pro 8 (Origin Lab Corporation) を使用して酸度-時間曲線の関数へのフィッティングと微分解析を試み、酸度-時間曲線を相互に比較検討した。

2. 結果および考察

2-1. 酸度-時間曲線と微分解析

図 1 は LKM512 菌による発酵曲線とその微分曲線を示す。測定した酸度の経時的变化をロジスティック関数で近似した曲線を細実線で示す。この曲線を時間で一次微分して得られた曲線 (一次微分曲線) を灰色実線で示す。更にこの曲線を微分した曲線 (二次微分曲線) を破線で示す。

一次および二次微分曲線のピーク出現時間とピーク高さを求めた。一次微分曲線の極大点出現時間は発酵工程における乳酸生成速度の最大

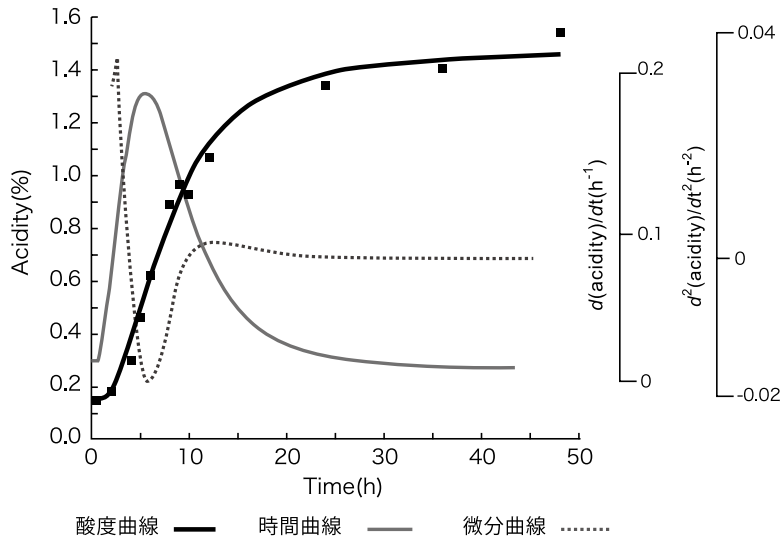


図1 LKM512 菌による酸度-時間曲線とその微分曲線

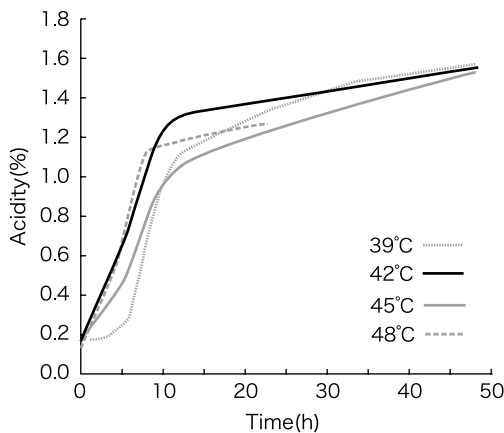


図2 発酵温度別酸度上昇曲線 (LKM512)

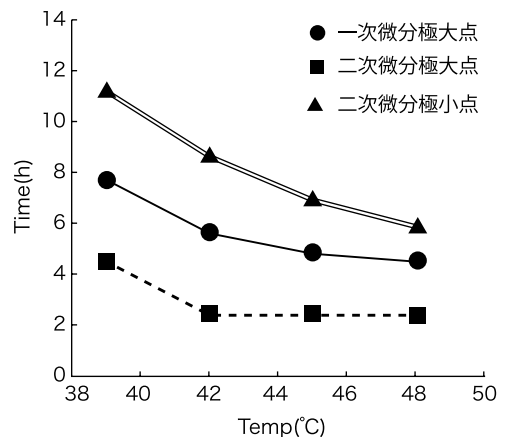


図3 発酵温度と微分解析値との関係

点（変曲点）であり、二次微分曲線の極大と極小点はそれぞれ対数増殖期の開始期と終了期に附合することが確認された。

図2はLKM512菌を用いて作製した発酵乳の酸度-時間曲線を示し、図3はこの酸度上昇曲線をロジスティック関数によって近似し、一次および二次微分曲線を数値化して表した。図3の実線は一次微分の極大点で、乳酸生成速度の最大点を示し、波線は二次微分の極大点で対数増殖期の開始期を示している。二重線は二次微分の極小点で対数増殖期の終了期を示してい

る。この2点の差をとることにより、対数増殖期の時間が予測される。LKM512菌では発酵温度が高くなるにつれて乳酸生成速度の最大点と対数増殖期の開始期と終了期が早くなり、さらに対数増殖期も短くなる傾向であった。

図4はABCT菌を用いて作製した発酵乳の酸度-時間曲線を示し、図5はこの酸度曲線を微分解析した結果を示した。ABCT菌では、発酵温度が高くなるにつれて乳酸生成速度の最大点、対数増殖期の終了期は早くなり、対数増殖期の開始期は42℃にピークらしきものがあ

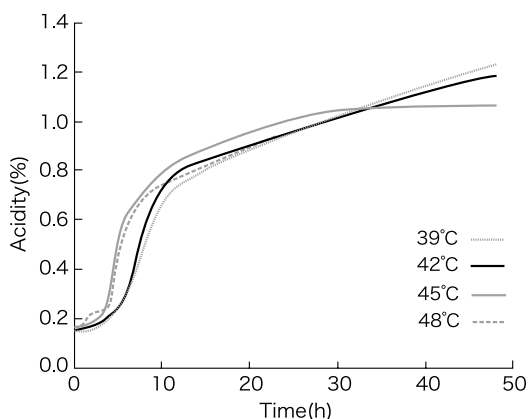


図4 発酵温度別酸度上昇曲線 (ABCT)

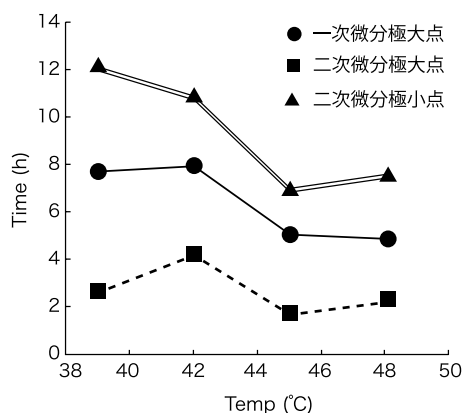


図5 発酵温度と微分解析値との関係 (ABCT)

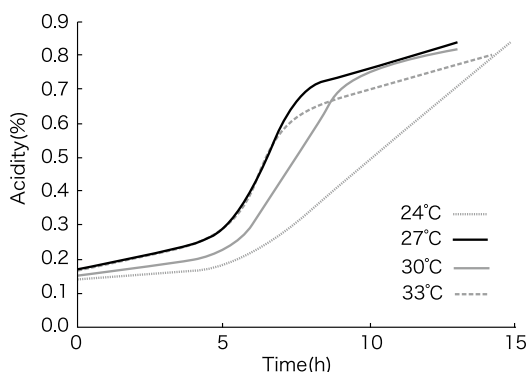


図6 発酵温度別酸度上昇曲線 (Kefir)

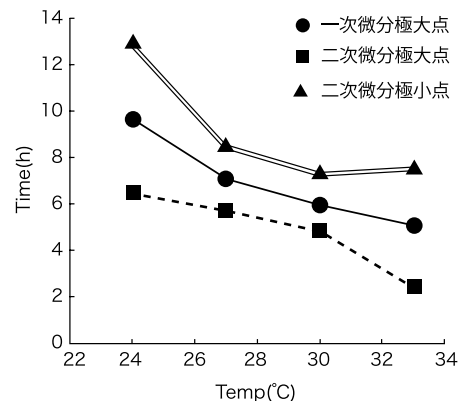


図7 発酵温度と微分解析値との関係 (Kefir)

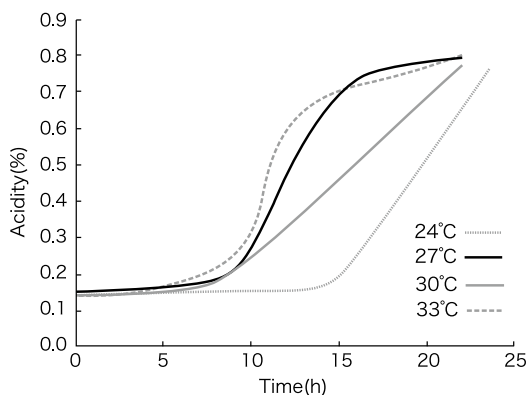


図8 発酵温度別酸度上昇曲線 (Caspian Sea)

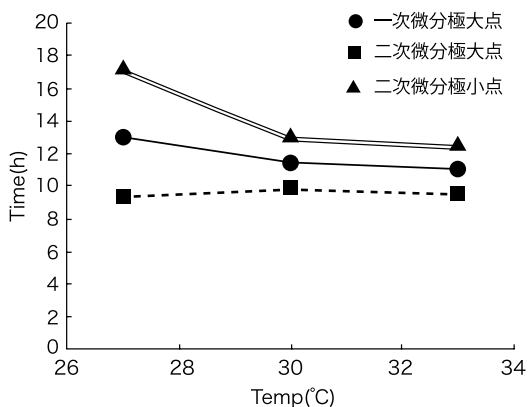


図9 発酵温度と微分解析値との関係 (Caspian Sea)

るが、その後早まる傾向であった。

図6はケフィア菌を用いた酸度－時間曲線を示し、図7はこの酸度曲線を微分解析した結果を示した。ケフィア菌は、発酵温度が高くなるにつれて乳酸生成速度の最大点、対数増殖期

の開始時間、終了時間が早まり、対数増殖期は27°Cと30°Cの場合で短くなる傾向であった。

図8はカスピ海菌を用いた酸度－時間曲線を示し、図9はこの酸度曲線を微分解析した

結果を示した。カスピ海菌は、発酵温度 24℃では酸度の上昇に時間がかかり、発酵温度に適していなかったのではないかと考えられる。一次微分の極大点、二次微分の極大、極小点は得られなかった。図 9 の結果から発酵温度の上昇に伴い、乳酸生成速度の最大点、対数増殖期の終了期は早くなるが、対数増殖期の開始期はあまり変化がなかった。対数増殖期は 30℃と 33℃の場合で短くなる傾向であった。

2-2. 乳酸菌の発酵温度と最大発酵速度の関係

図 10 は 4 種の乳酸菌の発酵温度と最大発酵速度との関係を示した。縦軸は酸度を時間で微分した一次微分値であり最大発酵速度を表している。横軸は発酵温度を示す。ABCT 菌では温度 45 度付近に至適温度域があり、その温度幅も狭いことがわかる。LKM512 菌、ケフィア菌では、至適温度域が比較的広いことが確認された。カスピ海菌の最大発酵速度は発酵温度にかかわらずほぼ一定していた。

2-3. 温度可変多段階発酵法

一般に発酵乳製造工程における発酵工程は用いる乳酸菌の至適温度域で行われるため、至適温度の異なる乳酸菌を同時に使用することはない。しかしながら、発酵代謝物の異なる乳酸菌を同時に使用することができれば製品の品質はよりバラエティに富んだものにできる可能性がある。このように発酵特性の異なる乳酸菌は至

適温度域も異なることが多いため実用化されてこなかった。

われわれの提案する温度可変多段階発酵法の概念を図 11 に示す。至適温度の異なる乳酸菌 A, B および C を同じ発酵容器中で各々の乳酸菌の至適温度で連続的に発酵させることを目的としている。この目的のためには二つの技術課題を解決しなければならない。第一に発酵温度をいかに迅速かつ正確に変更するかという温度制御法の課題があるが、この問題はジュール加熱技術の適用により解決できる³⁻⁵⁾。ジュール加熱の原理は加熱対象となる食品（発酵乳製造の場合は基質となる牛乳）に直接通電してその電気抵抗によって昇温させる。熱となるエネルギーは電気であるため、設定温度に達すれば通電が直ちに停止され、設定温度以上に昇温されることはない。また、昇温に要する時間も一般的な伝熱加熱法よりも短時間であることが確認されている。ジュール加熱法を用いることで複数の任意温度で多段階の温度設定が可能である。

第二の課題は発酵挙動の異なる複数の乳酸菌を同時に使用した場合、全体の発酵挙動が複雑になるため、Monod 式のような従来の酸度曲線を基にした酸度上昇予測が困難になることである。この課題の解決のために本稿で紹介した微分解析による対数増殖開始期や発酵速度の予測法が有効になる。

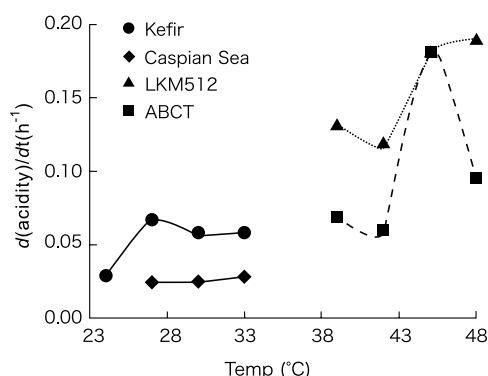


図 10 発酵温度と最大発酵速度の関係

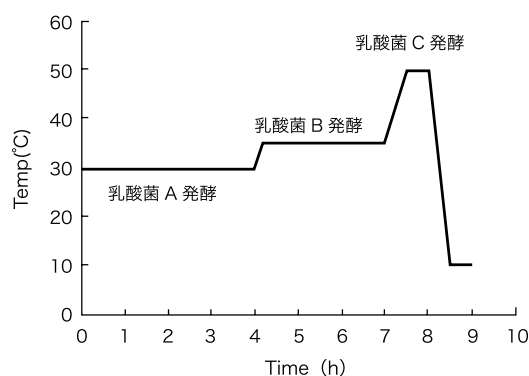


図 11 温度可変多段階発酵のイメージ

3. 要約

発酵曲線の微分解析値と発酵工程の特性は次のように関連づけすることができるものと思われる。

- 1) 一次微分極大点は出現時間が乳酸生成速度最大時間となり、対数増殖期中間点に附合する。ピークの高さは最大乳酸生成速度を表している。
- 2) 二次微分の極大点は出現時間が対数増殖期開始点に附合し、ピークの高さは最大乳酸生成加速度を表している。

- 3) 二次微分極小点は出現時間が対数増殖期終了点に附合し、ピークの高さは最大乳酸生成減速度を表している。
- 4) 二次微分の極小点と極大点の出現時間差が対数増殖期の長さに相当する。

以上のように、乳酸菌の発酵過程における酸度-時間曲線を微分解析することにより、発酵過程における主要なパラメータを抽出し、数値として相互に比較できるようになった。

参考文献

1. Monod, J.: Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes, Thèse de doctorat: Sciences naturelles: Université de Paris, 1941.
2. Kanna, M. and Matsumura, Y.: Applicability of Monod Equation to Growth Curves of various Microorganisms. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, 236-240, 2012.
3. 秋山美展: ジュール加熱技術の応用展開ープログラム加熱法の可能性ー. *ジャパンフードサイエンス*, (9): 79-83, 2002.
4. A. A. P. DE ALWIS, *et al.*: Shape and conductivity effect in the ohmic heating of foods. *Chem Eng Res Des*, : 159-168, March 1989.
5. 長縄明大, 伊藤博基, 秋山美展: 最少分散制御によるジュール加熱食品加工. *電気学会論文誌 D*, (5); 690-691, 2006.

連絡先: 秋山 美展

〒010-0195 秋田市下新城中野字街道端西 241-438

秋田県立大学 生物資源科学部

応用生物科学科 食品科学研究室 教授

Tel : 018-872-1586

Fax : 018-872-1676

培養による毒素産生型アスペルギルス属かびの検出法 - ジクロロボス - アンモニア蒸気法 (DV-AM 法)

久城 真代 (KUSHIRO Masayo)¹ 矢部 希見子 (YABE Kimiko)²

¹ 農業・食品産業技術総合研究機構, ² 福井工業大学

Key Words: アスペルギルス属かび アフラトキシン *Aspergillus flavus* *Aspergillus parasiticus*
Aspergillus oryzae

はじめに

かびが産生する二次代謝産物の中には、抗生物質のように有用なものもある半面、人畜に健康被害を及ぼすものも知られており、後者は総称してかび毒（マイコトキシン）とよばれている。海外の調査によると、世界の穀物の四分の一は、かび毒汚染の害を受けて廃棄されている。これまで、300 種以上のかび毒が報告されてきているが、食品安全に関連するかび毒の数は限られており、主要なかび毒は、3 種類のかび：アスペルギルス属、ペニシリウム属、フザリウム属によって産生されることが知られている。

かび毒の中でもアスペルギルス属菌が産生するアフラトキシン (AF) は、強力な急性毒性を有し、天然物の中で最も発がん性が強いことから、多くの国で穀物を含めた食品中の規制値が設定されている。もともと AF は、1960 年に英国で七面鳥大量死の原因物質として発見されたが、わが国でも 2008 年には AF 汚染したミニマムアクセス米の転売事件で AF が社会問題化したほか、2011 年に試験圃場で栽培された国産米の一部から規制値を超える AF が検出された。AF は安定な低分子で、いったん農作物が AF で汚染されると除去もしくは無毒化することは非常に困難なため、初発の AF 産生菌の農作物への付着による AF 汚染発生を制御することが必要である。これまで、熱帯～亜熱帯

圃場の土壌に生息する *Aspergillus flavus* および *Aspergillus parasiticus* に属する菌の一部の AF 産生菌が汚染源といわれてきたが、近年の地球規模での気象変動による産生菌の分布域の変動が懸念されており、AF 産生菌の簡便かつ高感度な判別法の開発が待たれている。

一方、わが国で発酵に使われる黄麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は、*A. flavus* と同じくアスペルギルス属に属し、分類学上非常に近縁であるが、家畜化された菌で、1400 年を超える食履歴が有り、FDA より GRAS (Generally Recognized As Safe) 認証を与えられている。

これら AF 非生産株 *A. oryzae* と生産株 *A. flavus* を、分子生物学的手法を利用して判別することは、両者が非常に近似した遺伝子配列を持つことから困難とされてきた^{1,2)}。

そこで、1960 年以降、培養による判別法が種々開発されてきている (表 1)。最も有名かつ世界中で使われている方法は、Pitt らにより

表 1 平板培地を用いた検出・判別法

手法	年	文献
AFPA 法	1983	Pitt <i>et al.</i> , ³⁾
UV 写真法	1987	Yabe <i>et al.</i> , ⁴⁾
CYC(cyclodextrin) 法	2001	Fente <i>et al.</i> , ⁵⁾
Carbon-CYC 法	2016	Suzuki and Iwahashi ⁶⁾
AM 法	1999	Saito and Machida ⁷⁾
DV-AM 法	2015	Yabe <i>et al.</i> , ⁸⁾

表2 AFPA法の培地組成

ペプトン	10 g
酵母エキス	20 g
塩化アンモニウム鉄	0.5 g
ジクロラン* (0.2% エタノール液)	1 mL
クロラムフェニコール	0.1 g
寒天	15 g
蒸留水	1 L

* 接合菌など生育の早い菌の生育を抑える

1983年に開発されたAFPA法で、*A. flavus* および *A. parasiticus* の選択培地として用いられている³⁾。一方で、日本で開発されたAM（アンモニア蒸気）法⁷⁾は、特殊な組成の培地は不要である。近年、矢部らは、AM法を改良し、より高感度に判別できるジクロロボス-アンモニア法（DV-AM法）を開発し、報告した⁸⁾。平板培地による判別法は、高額な分析機器や遺伝子解析設備、ならびに機器分析の技術や分子

生物学的手法の操作を必要としないため、フードチェーンの各工程に関与する実需者（生産者、加工業者、流通業者）にとって、使用が容易かつ有益な技術と考えられる。さらに、日本に限らず海外においても、汚染現場で容易に使える技術としての普及が期待される。

本稿では、DV-AM法について、AFPA法、AM法と比較しつつ解説する。

1. AFPA法

AFPA (*Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar) 法は、*A. flavus* グループに属するかびが共通に生産する Aspergillilic acid や noraspergillilic acid が鉄イオンを酸化させて、酸化鉄の赤色を検出する方法で、培地の組成に特色がある（表2: 塩化アンモニウム鉄）^{9, 10)}。本法では、AF産生菌の培養コロニーの裏面がオレンジ色に着色し、

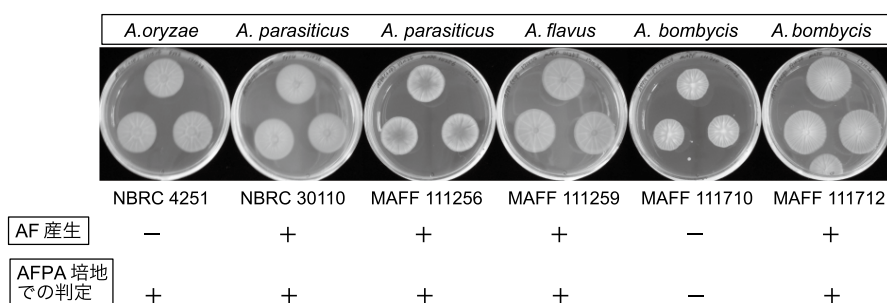


図1 アフラトキシン産生菌と非産生菌

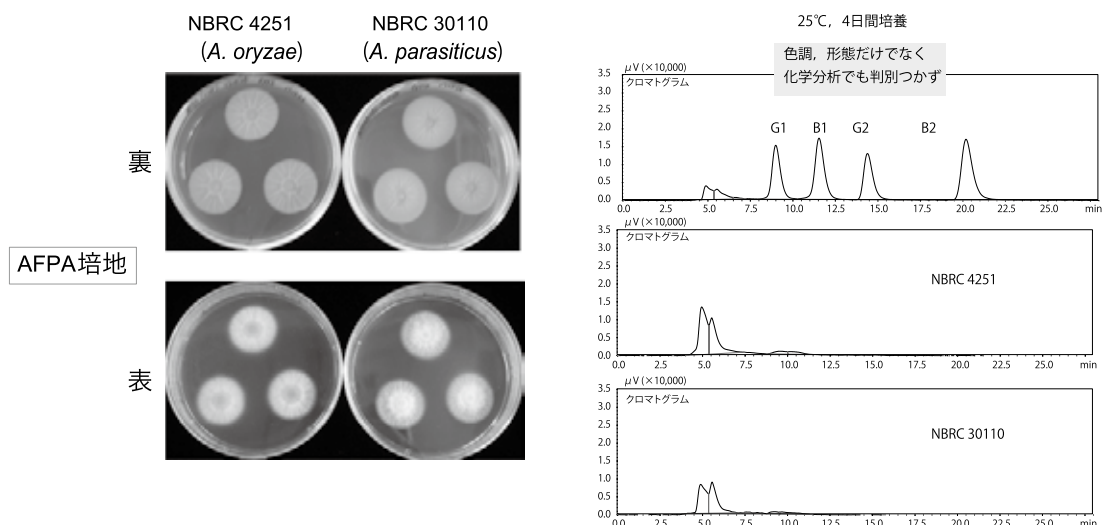


図2 AFPA法での判別が困難な例

一方、AF 非産生菌では、培養コロニーの裏面は白色（図 1.MAFF 111710）のため、産生菌の検出・判別が容易となる。しかしながら、黄麹菌 *A. oryzae* で擬陽性となる株があること（図 1.NBRC 4251）、また、最終産物の AF を検出しているわけではないこと（図 2.NBRC 4251（非産生菌）と NBRC 30110（産生菌）との比較）から、本法だけではわが国で醸造に使われる *A. oryzae* と、AF 産生菌の区別が困難な場合がある。

2. AM 法

わが国で開発された AM（アンモニア蒸気）法は、特別な培地は必要なく、YES（Yeast Extract- スクロース）寒天培地、GY（グルコー

ス-Yeast Extract）寒天培地など、AF が蓄積しやすい培地が利用できる。一般的にかび分離に用いられる PDA（ポテトデキストロース寒天）培地も使用可能である。この上で菌を培養した後、平板培地を裏返し、蓋の部分にアンモニア水を数滴たらすことでアンモニア蒸気にコロニーをさらすと、AF 産生菌の培養コロニーは赤変するのに対し、AF 非産生菌の培養コロニー色は変化しない（図 3）⁷⁾。菌株によっては培養 2 日目から、一般には 3-5 日目で判別が可能である。また、培養後のコロニーをそのままかきとり、有機溶媒で抽出して化学分析にかけることで、AF 蓄積の確認も可能である。本法によりわが国で醸造に使われる *A. oryzae* と、AF

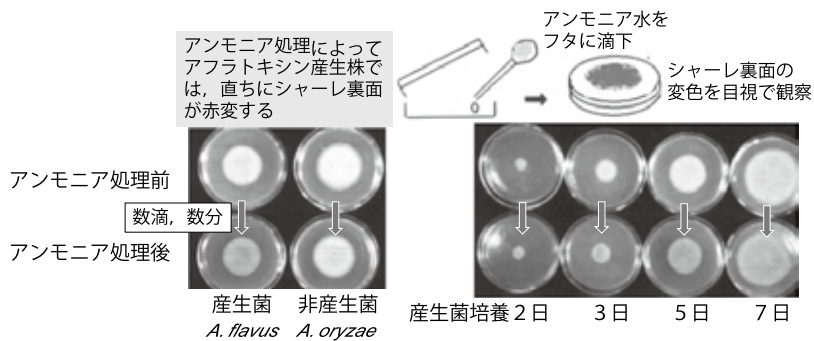


図 3 AM 法の概要（斎藤道彦博士の許可を得て掲載）

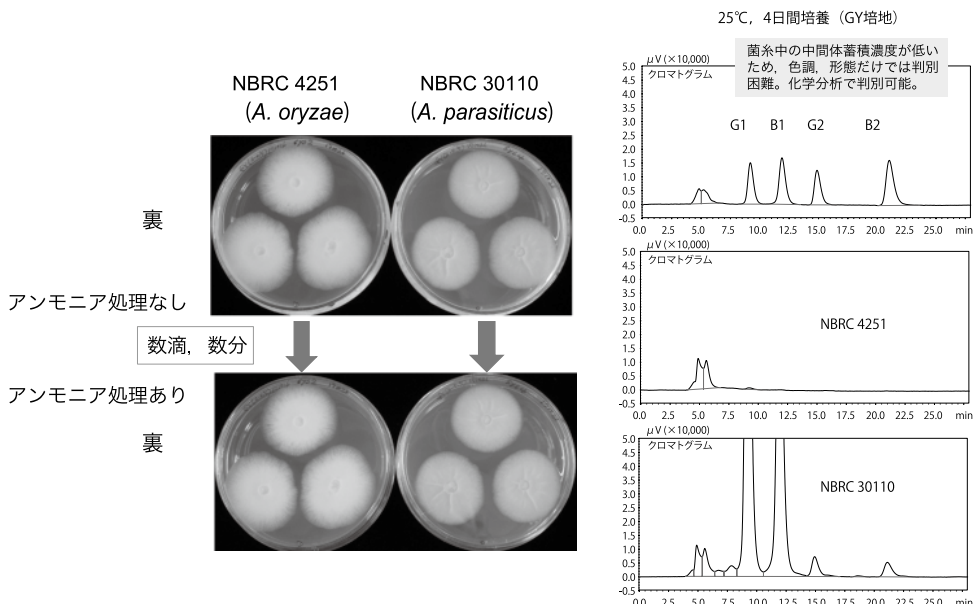


図 4 AM 法での判別が困難な例

産生菌の内 *A. flavus* との区別を低コストかつ簡便に行うことが可能となったが、産生菌の種類(NBRC 30110 (*A. parasiticus*) など)によっては、赤変色が明瞭でない場合があり、「より色調変化を明瞭にする」方法が望まれていた(図4)。

3. DV-AM 法の原理

「より色調変化を明瞭にする」方法として、2015年に矢部・中島らによる長年のAF生成研究の知見を生かし、「DV(ジクロールボス: 農薬の一種でエステラーゼ阻害作用)」を用い

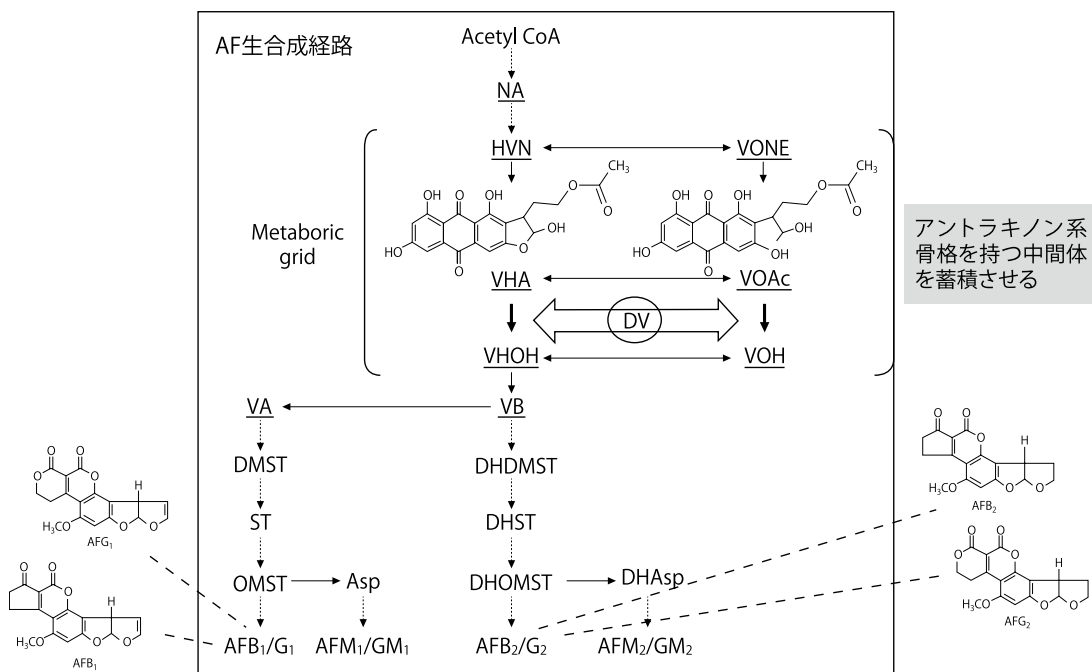


図5 主要アフラトキシン生成経路とジクロールボス(DV)の作用部位

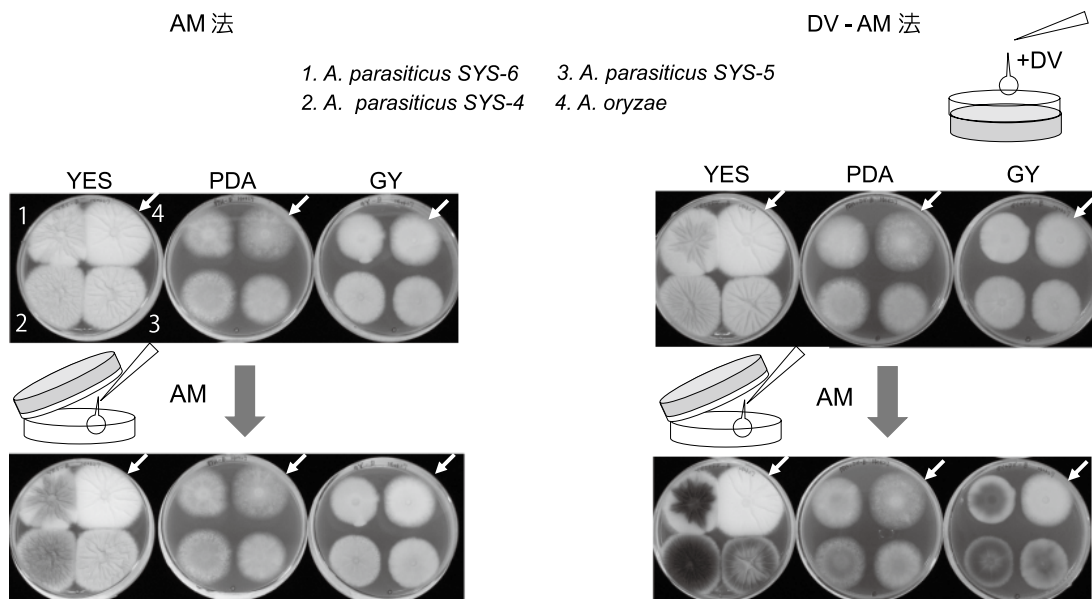


図6 AM法とDV-AM法の比較

てアントラキノン系骨格を持つ中間体=VHA (versiconal hemiacetal acetate) および VOAc (versiconol acetate) を蓄積させる方法が考案された (図 5)。

基本寒天培地の表面に、AF 合成経路中の VHA エステレース酵素の阻害剤ジクロロボス (DV) を塗布した上で AF 生産カビを培養すると、カビによる AF 生産量が顕著に減少するのに対して、VHA エステレース反応の直前の中間体である VHA および VOAc が菌糸中に蓄積し、これらの中間体が黄色色素であるため菌糸が黄色に着色する。黄色は、これらの中間体が分子構造の中にアントラキノン構造を有していることに因るもので、アントラキノン構造は酸性下では黄色を示し、アルカリ条件では赤紫に変化する。中間体は細胞の中では酸性環境の細胞小器官に存在し、黄色の菌糸を示すが、アンモニア蒸気でアルカリ環境に変化させると、赤紫に変化して、コロニーをプレートの裏から見た場合、コロニーの色調が黄色から赤紫に劇的に変化することが期待されるのである。

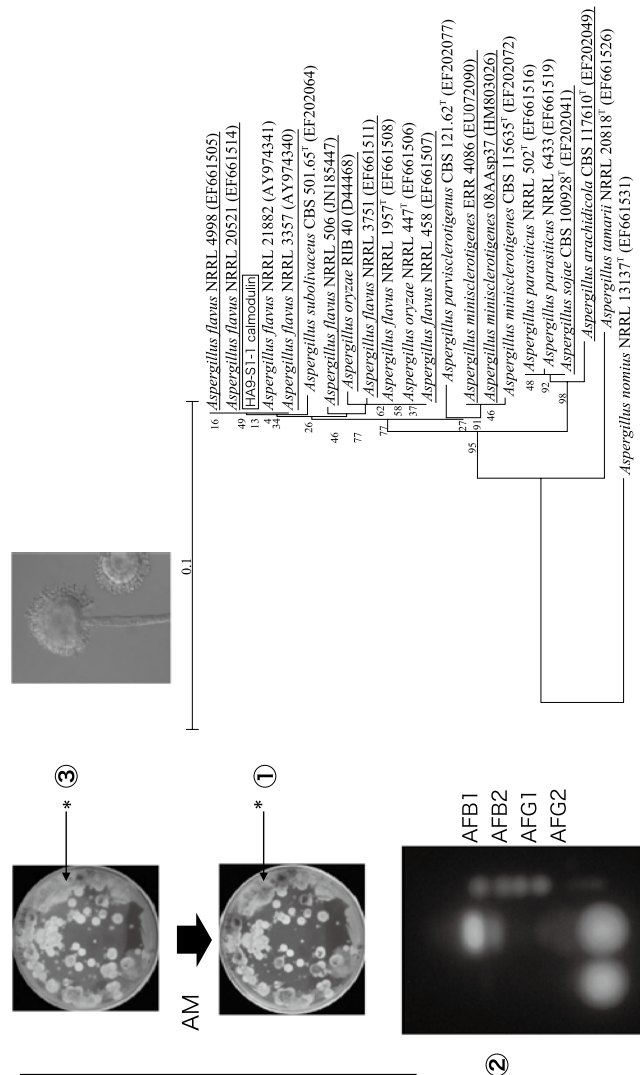
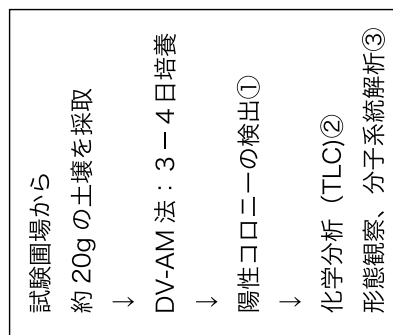


図 7 DV-AM 法による土壌からのアフラトキシン産生菌の分離

4. AM 法と DV-AM 法の比較

AM 法, DV-AM 法ともに、培地として一般的な PDA 寒天培地や YES 寒天培地, GY 寒天培地などが利用できる。Czapek 寒天培地は、AF 生産性が低いいため推奨されない⁹⁾。DV-AM 法では、培養前に寒天培地表面に DV を塗布する点だけが、AM 法との違いであるが、AM 法では各種中間体は常に AF に変換されているため、



細胞内の中間体濃度は大きく増加することはない。そのため、色調の変化は限られている。一方、DVを添加するとAFの代わりにVHAとVOAcが蓄積を続け、そのため、AMによって生じる赤紫は顕著に濃くなるという利点がある。

AF生産菌の中でも、*A. flavus*は比較的中間体の濃度が高いらしく、AM法でも有意な色の変化が見られるが(図3)、*A. parasiticus*では、AM法ではほとんど色が付かない。例えば、図6に、AF生産菌3株(1-3. いずれも*A. parasiticus*)とAF非生産菌1株(4. *A. oryzae*)を用いて比較試験を行った結果を示している。AM法(図6. 右下)に比べ、DV-AM法(図6. 左下)では、いずれの培地を用いた場合も、より明瞭な色調変化が観察された。DV-AM法では、寒天培地の裏から見たコロニーの色調が黄白色から鮮やかな赤紫に変化することでコントラストがはっきりし、目視での判別が容易となる。したがって、全てのAF生産菌を検出するためには、DV-AM法が適していることは明らかである。

5. DV-AM法の応用

菌を培養するだけの操作で「毒素を作るか否か」が高感度に判別できるジクロロボス-アンモニア法(DV-AM法)が開発できたことか

ら、実際に、夾雑物および夾雑微生物が多く含まれると予想される圃場土壌からのAF生産菌分離を試みた(図7)。AF生産菌はもともと熱帯、亜熱帯にしか生息しないと言われていたが、近年の地球規模での気象変動により、生息域の変化が示唆されている¹¹⁾。そこで、今回は、関東地方の試験圃場の土壌をDV-AM法に供した。その結果、有意に赤くなるコロニー(陽性コロニー)が見出され、この株を分離・純化し、化学分析と形態学的・分子系統学的解析を行ったところ、BタイプのAFを生産する*Aspergillus flavus*であると同定できた。以上より、DV-AM法は、土壌のように多様な微生物を含む試料からでも直接、AF生産菌を判別・分離するのに有効であることが証明された。

おわりに

土壌や植物体上等、環境中の様々な微生物群と共存するAF生産カビを、正確かつ簡便にできるようにするには、現場で利用可能な手法が必要であったが、AF生合成研究の知見を生かしたDV-AM法が開発されたことより、判別をより確実にすることが可能となった。今後、AF生産菌の存在や分布を明らかにするのみならず、作物のAF汚染低減への道筋も示していきたいと考えている。

参考文献

1. Sudini H, Srilakshmi P, Kumar KVK. *et al.*: Detection of aflatoxigenic *Aspergillus* strains by cultural and molecular methods: A critical review. *African J. Microbiol. Res.* **9**(8): 484-491, 2015.
2. Levin RE: PCR detection of aflatoxin producing fungi and its limitations. *Int. J. Food Microbiol.* **156**: 1-6, 2012.
3. Pitt JI, Hocking AD, Glenn DR: An improved medium for the detection of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *J. Appl. Bacteriol.* **54**: 109-114, 1983.
4. Yabe K, Ando Y, Ito M, *et al.*: Simple method for screening aflatoxin-producing molds by UV photography. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 230-234, 1987.
5. Fente CA, Ordaz JJ, Vazquez BI, *et al.*: New additive for cultural media for rapid identification of aflatoxin producing *Aspergillus* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 4858-4862, 2001.
6. Suzuki T and Iwahashi Y: Addition of carbon to the culture medium improves the detection efficiency of aflatoxin synthetic fungi. *Toxins* **8**: 338, 2016.
7. Saito M and Machida S: A rapid identification method for aflatoxin producing strains of *A. flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. *Mycoscience*. **40**: 205-221, 1999.
8. Yabe K, Hatabayashi H, Ikehata A, *et al.*: Development of the dichlorvos-ammonia (DV-AM) method for the visual detection of aflatoxigenic fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **99**: 10681-10694, 2015.
9. 斉藤道彦：貯蔵穀類加害菌類の分離・同定 Isolation and identification of fungi invading stored cereal grains. 微生物遺伝資源利用マニュアル (22) MAFF Microorganism Genetic Resources Manual No.22: 1-11, 2007.
10. 矢口貴志：真菌の分類と同定 Classification and identification of fungi. モダンメディア *Modern Media* **55**(8): 205-212, 2009.
11. 斉藤道彦, 岡崎 博, 田中健治ら：茨城県および千葉県内の畑土壌における *Aspergillus flavus* および *A. parasiticus* の分布調査 Distribution of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in field soils from Ibaraki and Chiba Prefectures. 食総研報 Rep. Nat'l. Food Res. Inst. **72**, 77-81, 2008.
12. Kushiro M, Hatabayashi H, Zheng Y, *et al.*: Application of newly-developed dichlorvos-ammonia (DV-AM) method to direct isolation of aflatoxigenic fungi from field soils. *Mycoscience*. **58**: 85-91, 2017.

浮遊糸状菌類の分布調査を 寒冷地農業に生かす試み その2

旭川・留萌地域に分布する灰色カビの薬剤感受性

富樫 巖 (TOGASHI Iwao) 本多 信治 (HONDA Shinji)
福田 拓巳 (FUKUDA Takumi) 寄谷 明香 (YOSETANI Sayaka)

旭川工業高等専門学校

Key Words：環境微生物 灰色かび病菌 農業用殺菌剤 カチオン系殺菌剤

はじめに

前報¹⁾で著者らは、旭川市郊外（田園地帯）の園芸栽培施設における灰色かび病対策である農業用殺菌剤の経験的選定手法に疑問を抱き、該当地域の環境微生物負荷（広義のバイオバーデン：ボトリチス属菌の薬剤感受性を把握する）を調査・分析し、効果的な殺菌剤を選定する「アイデア」と「その試み」を紹介した。

すなわち、2006～2008年の3年間に調査地域から分離した73菌株のボトリチス属菌（灰色かび病菌）の36%に当たる26菌株が、市販の農業用殺菌剤のTM水和剤（主成分：チオファネートメチル70.0%含有）やRo水和剤（同：イプロジオン50.0%含有）を0.05%（w/v）含むポテトデキストロース寒天（PDA）平板培地上で成長した。一例には過ぎないが、任意に選抜・供試した4菌株のボトリチス属菌はTM水和剤、Ro水和剤、Be（同：ベノミル50.0%含有）、およびBc（同：イミノクタジナルベシル酸塩40.0%含有）に対してレベルの差はあるものの非感受性を示すものが多く、4菌株の防除にはGe（同：ジエトフェノンカルブ12.5%+チオファネートメチル52.5%含有）が効果的であった。また、0.1%（w/v）濃度のTM水和剤やRo水和剤を添加したPDA平板培地をエ

アーサンプラーに組み込んで空中浮遊糸状菌を採取した場合、コントロールPDA平板培地の場合に匹敵する多数のコロニーを形成するケースも見られた。サンプリング時期に関係なく空中浮遊糸状菌の菌相についてはクラドスポリウム属菌が優勢種であり、分離・検定した同属菌株がTM水和剤やRo水和剤に耐性を示した。

以上の原因として、農業活動（農業用殺菌剤の利用）の積み重ねが調査地域に分布する空中浮遊糸状菌に影響を及ぼしている可能性が考えられた。この推察がまとを得たものであれば、農業用殺菌剤以外のもの、例えば医療分野で皮膚や器材の消毒などに使用される第4アンモニウム塩などの殺菌剤に対する空中浮遊糸状菌の感受性に興味を湧く。そこで、調査地域を拡大して、「市街地」の旭川市中心部、そして「田園地帯」の旭川市郊外（一部、近隣自治体含む）、さらに日本海に面した「水産および水産加工業」がある留萌管内沿岸部の3地域で、空中浮遊糸状菌の調査・分析を行うこととした。

具体的には、コントロールPDA培地、そして農業用殺菌剤のTM水和剤および第4アンモニウム系殺菌剤のOs（主成分：塩化ベンザルコニウム10%（w/v）含有）を添加した両PDA培地に発現する生菌数や菌相を観察した。さら

に、農業に影響を及ぼす植物病原性糸状菌として前報と同様にボトリチス属菌に注目し、3地域での検出状況や農業用殺菌剤に対して非感受性を示す割合を観察した。

1. 空中浮遊糸状菌の調査

1.1. 空中浮遊菌のサンプリングおよび菌数と菌相の調査方法

2008年5月から2010年12月の期間において、表1と図1～2に示す旭川市中心部（5地点13回）、旭川市郊外（12地点46回）および留萌管内沿岸部（3地点15回）の3地域20地点にて空中浮遊糸状菌を合計74回採取した。旭川中心部はJR旭川駅から2km以内の市街地、旭川市郊外は同駅から4km以上離れた田園地帯とした。JR旭川駅とJR留萌駅の直線距離は約70km（JR留萌駅とJR旧増毛駅の直線距離は約15km）である。

空中浮遊糸状菌の採取は衝突法を用いた。す

なわち、直径90mmのシャーレとPDA（日水製薬製）を用いて作成した平板培地（以下、PDA平板培地）、高圧蒸気殺菌したPDA培地に濃度0.1%（w/v）になるようにTM水和剤を添加した平板培地（同、TM平板培地）、同PDA培地に濃度0.2%（v/v）になるようにO_sを添加した平板培地（同、O_s平板培地）を1地点あたり各2枚供試し、エアースAMPLER（MERCK製、MAS100）を用いて地面から約1mの高さで100Lの空気を1分間吸引して行った^{2,3)}（図3参照）。

空中浮遊菌を採取した各平板培地を温度25℃で最大7日間培養し、培地に発現する糸状菌のコロニーを計数して生菌数（CFU/plate）とした。さらに目視による同コロニーの観察および顕微鏡（実体顕微鏡と位相差顕微鏡）による菌糸・孢子形成器官・孢子の観察を行い、種々の文献⁴⁻⁷⁾を参考にして属レベルの同定を行った。

表1 空中浮遊糸状菌の採取場所と採取時期（2008～2010年、20地点、74回採取）

地域	地点	2008年 採取時期	2009年 採取時期	2010年 採取時期
旭川市中心部	①常磐公園		5月、6月	7月
	②買物公園		7月	
	③北彩都 ^{*1}		7月、12月	3～5月、7月
	④忠別公園		6月	
	⑤見本林		6月	4月
	⑥カムイの社公園		10月	5月
	⑦北邦野草園		5月、10月	
	⑧旭岡		4月、5月、7月、 10月、12月	5月
旭川市郊外	⑨春光台公園		4月	
	⑩春光園公園		4月	
	⑪旭神	5～12月	1月	7月
	⑫東神楽町西部			3月、4月
	⑬忠別川浄水場	5～8月、 10～12月	1月	3月
	⑭東川町西部	5～12月	1月	
	⑮東川町森林公園 ^{*2}		8月 ^{*2} 、12月	
留萌管内 沿岸部	⑯旧増毛駅		9月、10月	5月、6月、12月
	⑰増毛町陣屋展望台		9月、10月	5月、6月、12月
	⑱留萌市黄金岬		9月、10月	5月、6月、12月

注) ^{*1}：JR旭川駅周辺地区の愛称名、^{*2}：2009年8月に同地点で3回サンプリングを実施



図1 旭川市中心部と旭川市郊外における空中浮遊糸状菌の採取場所
注) 2010年6月のGoogle マップ使用；図中の①～⑮は表1とリンクしている

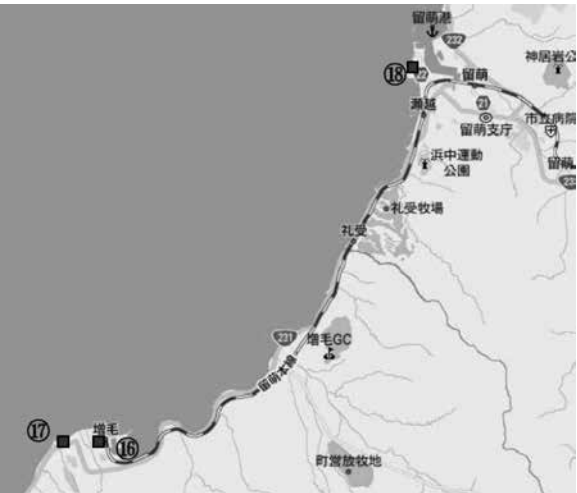


図2 留萌管内沿岸部における空中浮遊糸状菌の採取場所
注) 2010年6月のGoogle マップ使用；図中の⑯～⑰は表1とリンクしている

表2 各地域における供試培地ごとの糸状菌の平均コロニー数 (CFU/plate) と PDA 平板培地 (コントロール = 100) に対するコロニー数の相対値

地域	培地	PDA	TM	O _s
	平板培地	平板培地	平板培地	平板培地
旭川市中心部 (相対値)	57.4 (100)	9 (15.7)	0.2 (0.3)	
旭川市郊外 (相対値)	70.8 (100)	23.1 (32.6)	0.04 (0.1)	
留萌管内沿岸部 (相対値)	44.3 (100)	4.6 (10.3)	0 (0.0)	

注) PDA 平板培地：コントロール，TM 平板培地：TM 水和剤 0.1% (w/v) 添加 PDA 培地，O_s 平板培地：O_s 0.2% (v/v) 添加 PDA 培地；TM 水和剤の主成分はチオファネートメチル，O_s の主成分は塩化ベンザルコニウム



図3 旭川市中心部 (左:買物公園), 旭川市郊外 (中:東神楽町西部), 留萌管内沿岸部 (右:増毛町陣屋展望台) での空中浮遊糸状菌の採取風景

1.2. 空中浮遊糸状菌の生菌数

3 地域における各平板培地の糸状菌の平均生菌数 (CFU/plate), および PDA 平板培地の生菌数を「100」とした相対値を表 2 に示す。これらは旭川中心部での 13 回のサンプリング, 旭川市郊外での 46 回のサンプリング, 留萌管内沿岸部での 15 回のサンプリングにおける各生菌数のそれぞれの平均値である。PDA 平板培地と TM 平板培地の生菌数は, 旭川市郊外が 71 (CFU/plate) と 23 (CFU/plate) で最も多く, 以下, 旭川市中心部, 留萌管内沿岸部の順であった。TM 水和剤に非感受性を示すことが想定される TM 平板培地でのコロニー数の相対値は, 旭川市郊外が「33」, 旭川中心部ではその半分以下の「16」, 留萌管内沿岸部では同 1/3 以下の「10」となった。いずれのサンプリング地域でも O_s 平板培地にはほとんどコロニーが発現せず, 旭川中心部が 0.2 (CFU/plate), 旭川市郊外がほぼゼロ, 留萌管内沿岸部ではゼロであった。もともと O_s に対して非感受性の糸状菌が少ないか, O_s が医療機関や食品加工工場など室内環境中心の細菌類防除に使用されるものであり, 農業現場など屋外で 사용되는ことは無いために顕在化に至っていないと考えられる。

以上をまとめると調査地域または供試した平板培地により生菌数が異なったことから, 調査地域の空中浮遊糸状菌は産業活動 (本研究では農業が該当) や都市化の影響などを受けていることが考えられる。自然界には種々の薬剤に非感受性を示す糸状菌が一定の割合で自然分布していると仮定すれば, O_s 平板培地での発現菌数が非常に少なく,

TM 平板培地での発現菌数が多い原因としては TM 水和剤に感受性の菌株が同剤の阻害を受けて減少し, 同時に非感受性の菌株が増加した可能性⁸⁾, または感受性の菌株が後天的に TM 水和剤に対して耐性を獲得した可能性⁹⁾がある。

なお, 表 1 に示す 3 地域の調査時の気温は, 2009 年の旭川市郊外が -4.0℃ (12 月) ~ 25.1℃ (8 月), 2009 年においては旭川市中心部が -2.8℃ (12 月) ~ 32.5℃ (7 月), 旭川市郊外が -14.5℃ (1 月) ~ 30.6℃ (7 月), 留萌管内沿岸部が 7.2℃ (10 月) ~ 27.5℃ (9 月), 2010 年においては旭川市中心部が -0.5℃ (3 月) ~ 35.5℃ (7 月), 旭

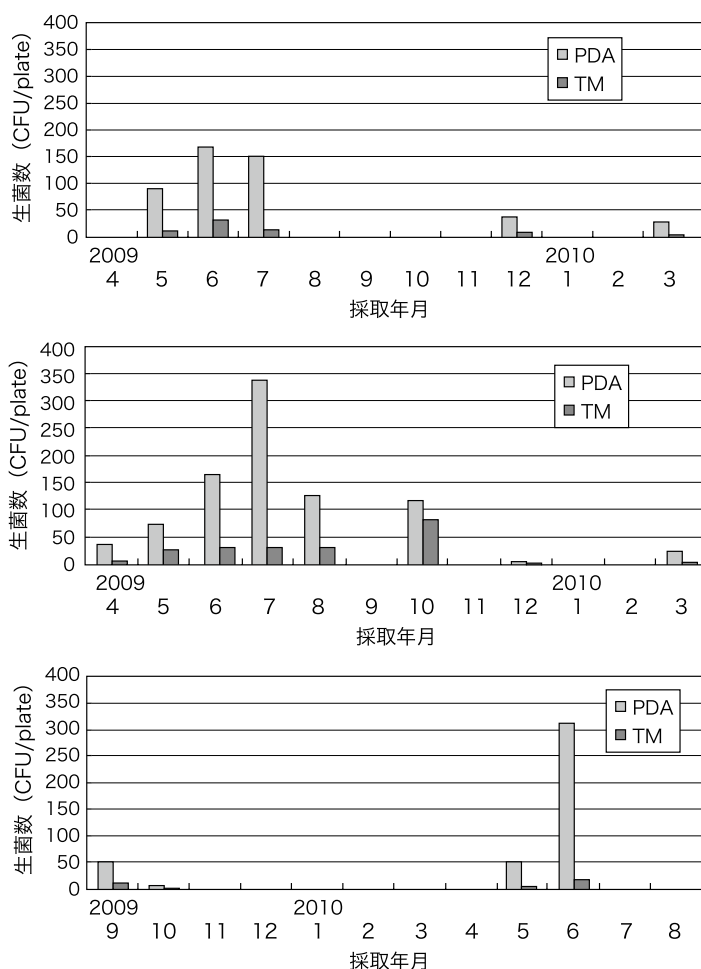


図4 旭川市中心部 (上), 旭川市郊外 (中), 留萌管内沿岸部 (下) の空中浮遊糸状菌の生菌数

注) PDA : PDA 平板培地, TM : TM 水和剤 0.1% (w/v) 添加 PDA 平板培地

川市郊外が -1.5°C （3月）～ 30.8°C （7月）、留萌管内沿岸部が 8.4°C （12月）～ 29.5°C （6月）であった。

図4には、3地域における空中浮遊糸状菌（生菌数：PDA平板培地とTM平板培地）の各年間変動を示す。月ごとのデータが揃っていないが、前報¹⁾で示した結果と同様に両平板培地において夏の6～7月にかけて生菌数が増加し（PDA平板培地：旭川市中心部の最大値169（CFU/plate）～旭川市郊外の最大値338（CFU/plate）～留萌管内沿岸部の最大値311（CFU/plate））、12～3月の積雪時に生菌数が低下する傾向が見られた（PDA平板培地：旭川市中心部の最小値29（CFU/plate）～旭川市郊外の最小値5（CFU/plate））。図4に示していないが、留萌管内沿岸部の2010年12月5日（積雪なし）のPDA平板培地では20（CFU/plate）であった。こうした現象の原因としては、春～夏では気温上昇による中温微生物を中心とした増殖活動の活発化により糸状菌胞子の飛散量の増加が生じたこと、田畑の耕作などによる土埃飛散量の増大に伴って浮遊微生物数が増加した可能性が考えられる。冬季では気温低下による微生物の活動低下、および降雪による土埃の飛散量が抑えられたことで浮遊微生物数が減少し

たと推察される。

1.3. 空中浮遊糸状菌の菌相

旭川市中心部、旭川市郊外、および留萌管内沿岸部の空中浮遊糸状菌についてPDA平板培地とTM平板培地で占有率（各調査地域の全生菌数に対する割合）が高い上位3属の同値を表3にそれぞれ示す。PDA平板培地ではいずれの地域においてもクラドスポリウム属菌（*Cladosporium* spp.）が優勢種で、全糸状菌コロニー数に対する占有率がほぼ70%を上回った。一般的にクラドスポリウム属菌は空中に最も多く浮遊している糸状菌とされる¹⁰⁾。以下に菌糸型不完全菌類（*Mycelia Sterilia*）が続く、その占有率はいずれも10～16%程度で3位以下の種々の糸状菌と比較して高い値となった。なお、旭川市中心部と旭川市郊外において占有率が3位の糸状菌はペニシリウム属菌（*Penicillium* spp.）で、その値は2～5%であった。TM平板培地でもクラドスポリウム属菌が優勢種であったが、留萌管内沿岸部では菌糸型不完全菌類が38%を占めて優勢種となった。同地域ではPDA平板培地と比較してTM平板培地でのクラドスポリウム属菌のコロニー発現数が少なかった。

表3 各地域において優勢な糸状菌と各コロニー占有率
(PDA平板培地とTM平板培地)

採取培地 地 域		優勢な糸状菌とコロニー占有率		
旭川市中心部	PDA	<i>Cladosporium</i> spp. 68.9%	<i>Mycelia Sterilia</i> 15.5%	<i>Penicillium</i> spp. 4.5%
	TM	<i>Cladosporium</i> spp. 27.7%	<i>Mycelia Sterilia</i> 24.3%	<i>Penicillium</i> spp. 3.4%
旭川市郊外	PDA	<i>Cladosporium</i> spp. 73.4%	<i>Mycelia Sterilia</i> 11.0%	<i>Penicillium</i> spp. 1.8%
	TM	<i>Cladosporium</i> spp. 49.7%	<i>Mycelia Sterilia</i> 20.7%	<i>Alternaria</i> spp. 4.6%
留萌管内沿岸部	PDA	<i>Cladosporium</i> spp. 76.7%	<i>Mycelia Sterilia</i> 9.6%	<i>Fsarium</i> spp. 3.6%
	TM	<i>Mycelia Sterilia</i> 38.3%	<i>Cladosporium</i> spp. 29.3%	<i>Ulocladium</i> spp. 7.5%

注) 図4と同じ

野菜類から花き類まで幅広い病害を引き起こす植物病原菌のボトリチス属菌 (*Botrytis* spp.) について、地域および培地ごとの占有率を表4に示す。PDA 平板培地では1%程度、TM 平板

培地では0.5～2%で共に値は高くないがいずれの地域でも分布が確認された。

表4 各地域におけるボトリチス属菌 (*Botrytis* spp.) のコロニー占有率とコロニー数 (PDA 平板培地および TM 平板培地)

地 域	培 地	コロニー占有率 / コロニー数
旭 川 市	PDA	1.1% / 17 CFU
中 心 部	TM	0.9% / 2 CFU
旭 川 市	PDA	0.9% / 60 CFU
郊 外	TM	0.5% / 11 CFU
留萌管内	PDA	0.8% / 11 CFU
沿 岸 部	TM	2.2% / 3 CFU

注) 図4と同じ

2. ボトリチス属菌の農業用殺菌剤に対する挙動

2.1. 供試菌株 (分離・保存・前培養)

1.1 の各平板培地上に発現した糸状菌のコロニーからボトリチス属菌の菌体を白金鉤で釣り上げることで分離を行い、単離した菌株から表5に示す62菌株を任意に選んでTM 水和剤に対する感受性判定試験に供試した。内訳としては、旭川市中心部11菌株、旭川市郊外41菌株、および留萌管内沿岸部10菌株である。これらの菌株についてはPDA 平板培地を用いて温度25℃で7日間培養した後、約5℃で保存

表5 TM 水和剤に対する感受性の判定に供試したボトリチス属菌 (62 菌株) とその結果

No.	菌株番号	採取地点と培地	採取年月	No.	菌株番号	採取地点と培地	採取年月日
1	ANCT-08004	⑭東川町西部・P	2008.5.25	32	ANCT-09010	①常磐公園・T	2009.6.24
2	ANCT-08005	⑪旭神・P	2008.5.25	33	ANCT-09011	②買い物公園・P	2009.7.7
3	ANCT-08006	⑪旭神・P	2008.6.15	34	ANCT-09012	②買い物公園・P	2009.7.7
4	ANCT-08008	⑭東川町西部・T	2008.5.25	35	ANCT-09013	③北彩都エリア・P	2009.7.7
5	ANCT-08009	⑭東川町西部・P	2008.6.15	36	ANCT-09014	⑮東川町森林公園・P	2009.8.30
6	ANCT-08010	⑬忠別川浄水場・P	2008.6.15	37	ANCT-09015	⑮東川町森林公園・T	2009.8.30
7	ANCT-08011	⑪旭神・P	2008.6.15	38	ANCT-09016	⑮東川町森林公園・P	2009.8.30
8	ANCT-08012	⑪旭神・T	2008.6.15	39	ANCT-09017	⑯留萌市黄金岬・P	2009.9.27
9	ANCT-08013	⑪旭神・P	2008.5.25	40	ANCT-09018	⑧旭岡・P	2009.10.23
10	ANCT-08014	⑬忠別川浄水場・P	2008.6.15	41	ANCT-09019	⑧旭岡・P	2009.10.23
11	ANCT-08015	⑭東川町西部・P	2008.6.15	42	ANCT-09020	⑧旭岡・P	2009.12.5
12	ANCT-08016	⑪旭神・P	2008.7.12	43	ANCT-10001	③北彩都・P	2010.5.8
13	ANCT-08017	⑭東川町西部・P	2008.7.12	44	ANCT-10002	③北彩都・P	2010.5.8
14	ANCT-08018	⑭東川町西部・P	2008.7.12	45	ANCT-10003	③北彩都・P	2010.4.7
15	ANCT-08019	⑭東川町西部・T	2008.7.12	46	ANCT-10004	③北彩都・P	2010.5.8
16	ANCT-08020	⑬忠別川浄水場・P	2008.7.12	47	ANCT-10005	⑥カムイの杜公園・P	2010.5.8
17	ANCT-08021	⑪旭神・P	2008.8.23	48	ANCT-10006	⑥カムイの杜公園・P	2010.5.8
18	ANCT-08022	⑪旭神・T	2008.8.23	49	ANCT-10007	⑥旭岡・P	2010.5.8
19	ANCT-08023	⑭東川町西部・T	2008.8.23	50	ANCT-10009	⑯旧増毛駅・P	2010.5.30
20	ANCT-08024	⑪旭神・T	2008.8.23	51	ANCT-10012	⑥カムイの杜公園・P	2010.5.8
21	ANCT-08025	⑪旭神・P	2008.9.15	52	ANCT-10013	⑥カムイの杜公園・P	2010.5.8
22	ANCT-08026	⑭東川町西部・T	2008.8.23	53	ANCT-10015	⑪旭神・P	2010.5.8
23	ANCT-08027	⑪旭神・P	2008.9.14	54	ANCT-10016	⑪旭神・P	2010.5.8
24	ANCT-08028	⑪旭神・T	2008.9.15	55	ANCT-10017	⑯旧増毛駅・P	2010.5.30
25	ANCT-08030	⑬忠別川浄水場・T	2008.8.23	56	ANCT-10019	⑰増毛町陣屋展望台・P	2010.5.30
26	ANCT-08032	⑬忠別川浄水場・P	2008.10.12	57	ANCT-10020	⑯増毛駅・T	2010.6.26
27	ANCT-08033	⑭東川町西部・P	2008.8.23	58	ANCT-10021	⑯増毛駅・T	2010.6.26
28	ANCT-08034	⑭東川町西部・P	2008.8.23	59	ANCT-10023	⑰増毛町陣屋展望台・P	2010.6.26
29	ANCT-09007	⑤見本林・P	2009.6.24	60	ANCT-10024	⑰増毛町陣屋展望台・T	2010.6.26
30	ANCT-09008	⑤見本林・P	2009.6.24	61	ANCT-10027	⑰増毛町陣屋展望台・P	2010.5.27
31	ANCT-09009	①常磐公園・P	2009.6.24	62	ANCT-10033	⑯旧増毛駅・P	2010.5.30

注) P: PDA 平板培地, T: TM 水和剤 0.05% (w/w) 添加 PDA 平板培地; 黒文字の48菌株がTM 水和剤に感受性, 白抜き文字の14菌株が非感受性と判定

表6 ボトリチス属菌の TM 水和剤・非感受性菌株の地域別発現率

地域	ボトリチス属菌の 供試菌株数	非感受性の 菌株数	非感受性の 発現率
旭川市 中心部	11	1	9.1%
旭川市 郊外	41	10	24.4%
留萌管内 沿岸部	10	3	30.0%
合 計	62	14	22.6%

注) 供試した 62 菌株：表 5 参照

した。各種試験に供試する場合には、25℃で7日間前培養した PDA 平板培地からコルクボーラで培地ごと打ち抜いた直径 5 mm の菌体円盤を接種源として用いた。

2.2. ボトリチス属菌の TM 水和剤に対する感受性

濃度が 0.05% (w/v) になるように TM 水和剤を添加した直径 90 mm の PDA 平板培地（以下、0.05%TM 平板培地）の中央に表 6 に示した各菌株の接種源を 1 個接種し、25℃で 10 日間培養して経時的に菌糸成長量を測定した。なお、繰返し数はいずれも 3 とした。

PDA 平板培地と 0.05%TM 平板培地でのボトリチス属菌の菌糸成長の例として、ANCT-09008 と ANCT-09010 のコロニー半径の経時変化を図 5 に示す。ANCT-09008 では 0.05%TM 平板培地で菌糸成長がみられなかった。一方、ANCT-09010 ではコントロールと比較すると 0.05%TM 平板培地での菌糸成長に若干の遅れがみられるが、両培地での菌糸成長挙動に殆ど差異がなかった。なお、両培地を温度 50℃以下に冷却してガラス電極で測定した両培地の pH は、5.4 ～ 5.5 であり、TM 水和剤の添加による pH 変化は生じていない。

ANCT-09008 と同様の挙動を示すものを TM 感受性菌、ANCT-09010 と同様の挙動を示すものを TM 非感受性菌と判定し、2.1 で示した 62 菌株の TM 水和剤に対する感受性の結果を表 5 に併記して示している。ANCT-09010 に加え

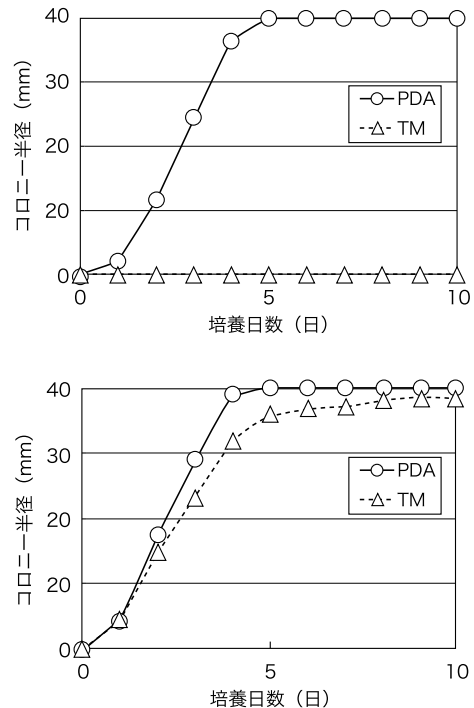


図5 PDA 平板培地と TM 平板培地におけるボトリチス属菌 ANCT-09008 (上) と ANCT-09010 (下) の菌糸成長の経時変化

注) PDA : PDA 平板培地, TM : TM 水和剤 0.05% (w/v) 添加 PDA 平板培地 ; ANCT-09008 は TM 水和剤感受性菌株, ANCT-09010 は同非感受性菌株と判断

て 13 菌株 (ANCT-08008, 同 08012, 同 08019, 同 08022, 同 08023, 同 08024, 同 08026, 同 08027, 同 08030, 同 09015, 同 10020, 同 10021, 同 10024) が非感受性となった。ANCT-0827 以外の 13 菌株は、全て TM 平板培地から分離されたものである。一方、TM 水和剤感受性菌株については ANCT-0828 を除き、それ以外の 47 菌株は PDA 平板培地から分離されたものである。ボトリチス属菌の TM 水和剤に対する非感受性菌株の発現比率を地域別に整理して表 6 に示す。その結果、旭川中心部の同発現比率が 9% であるのに対して、旭川市郊外と留萌管内沿岸部では 24% と 30% と高い値となった。この原因としては、旭川市郊外は田園地帯であり、農業用殺菌剤が使用されてきたことで TM 水和剤に対して耐性を有していた菌株、または後天的

換しにくく、市街地では二酸化窒素や浮遊粒子状物質の濃度が郊外よりも高くなることが指摘されている¹²⁾。空中浮遊糸状菌もそれぞれの地域に滞留し、その地域の影響を受けている可能性がある。

農業と糸状菌類の関わりに視点を置き、予備調査を含めて2006年1月～2010年12月の5年間に行った環境微生物調査の結果を前報¹⁾と本報告で取りまとめた。前報でも述べたこと

であるが、農業用殺菌剤というキーワードは食糧生産を支える重要な要素技術でありながら、一般消費者に対する話題としてはマイナスのイメージが付きまとう。著者らは農業活動を支える農業用殺菌剤の必要性、その効果的な利用に関心を持つ一般消費者が増えることを期待すると共に、本取組みについて公表の場を提供いただいた(株)食品資材研究会に深謝する。

引用文献

1. 富樫 巖, 寄谷明香, 菅野良平, 山本将平, 後藤静香, 藤原 彩: 浮遊糸状菌の分布調査を寒冷地農業に生かす試み その1 - 灰色カビに注目したバイオバーデンと施設栽培 -. *New Food Industry*, **59**(4): 1-12, 2017.
2. 鈴木宏美: メルク・エアースンプラー MAS100 について. 製剤機社会技術研究誌, **9** (1): 26-32, 2000.
3. 鈴木宏美: 環境菌あるいは空中浮遊菌回収並びに生育培地の選択. 防菌防黴, **29**(6): 417-423, 2001.
4. Malloch D (宇田川俊一, 室井哲夫 訳): カビの分離・培養と同定, 東京, 医歯薬出版, 100, 1984.
5. 渡邊恒雄: 土壌糸状菌—培養株の検索と形態, 東京, ソフトサイエンス社, 393, 1993.
6. 山崎省二: 環境微生物, 東京, オーム社, 154, 2002.
7. 宮道慎二: 微生物の世界, つくば, 筑波出版会, 211, 2006.
8. 例えば, Meiji Seika ファルマ(株) HP・水稻研究最前線 薬剤耐性菌耐性菌マネジメントについて: http://www.meiji-seika-pharma.co.jp/agriculture/lecture/pdf/research_02.pdf (取得年月日 2017.11.20)
9. 例えば, 奈良県公式 HP・薬剤耐性菌の話: <http://www.pref.nara.jp/10745.htm> (取得年月日 2017.11.20)
10. 例えば, 浜田信夫: 人類とカビの歴史 闘いと共生と, 東京, 朝日新聞出版, 241, 2013.
11. 留萌振興局 HP・果樹園情報: <http://www.rumoi.pref.hokkaido.lg.jp/ss/num/sonota/kajyuen.htm> (取得年月日 2017.11.19)
12. 石田秀樹: きれいな空気をこどもたちに都市域の大気環境を健全に保つ街づくりへの提案, 北海道住まい・環境教育学会論文報告集, No.4, 5-9, 2006.

オリーブ葉抽出物オレアノール-55の機能性について

古山 啓介 (FURUYAMA Keisuke) 中村 裕道 (NAKAMURA Hiromichi) 渡辺 剛 (WATANABE Tsuyoshi)

タマ生化学株式会社

Key Words：オリーブ葉 オレアノール酸 オレアノール-55 トリテルペン

はじめに

近年、健康的な食習慣への関心が高まっている。中でも地中海食はメタボリックシンドロームや心血管疾患などに対する効果が期待され、2010年にはユネスコの世界無形文化遺産に登録されている。地中海食では伝統的にオリーブ油が使用され、オリーブは地中海地方の人々にとって最も古く、重要な栽培植物であった。一方、オリーブの葉は古くから薬用として用いられ、最近の研究でセコイリドイド配糖体、トリテルペン、フェノール化合物、フラボノイド等の化合物が同定され、それらの生理活性が多数報告されている。当社ではこのトリテルペンに着目し、オレアノール酸(OA)を主成分としたオリーブ葉抽出物「オレアノール-55」を開発した。本稿ではOAの機能性を中心に「オレアノール-55」の紹介をしたい。

1. オレアノール酸

オレアノール-55の主成分であるOA(図1)は、ウルソール酸(UA)やベツリン酸と共に三大機能性トリテルペンに数えられ、オリーブやブドウ、或いは多くの薬用植物にも含まれている。その機能性に関しては、抗ガン作用、血糖値上昇抑制作用、肝臓保護作用、抗菌作用、抗炎症作用あるいは抗酸化作用などが報告され、メタボリックシンドロームの予防・改善やスキンケア素材として期待されている。

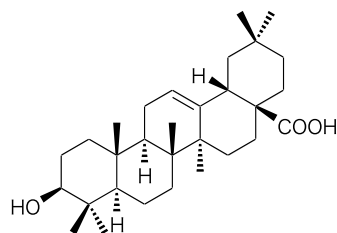


図1 オレアノール酸

2. 肝臓保護作用

肝臓は解毒、代謝や胆汁の生成・分泌などを担う重要な器官である。OAは、肝機能障害に関わる経口薬として、中国ではSFDA(米国のFDAに相当)によって承認されている¹⁾。OAは四塩化炭素、カドミウム、アセトアミノフェン、プロモベンゼンなどの様々な肝毒性物質から肝臓を保護する機能²⁾のほか、肝線維症や肝硬変への効果も示されている³⁾。OAによってメタロチオネイン(重金属と結合するたんぱく質)やNrf2(酸化ストレスを制御する転写因子)などの発現増加が促され、これがOAの肝保護において重要な働きをすると考えられている。また、CYP2E1およびADH(活性酸素やアセトアルデヒドを発生させる酵素)の働きを抑えること、TNF- α およびIL-6(炎症に関与)の生成を阻害することからエタノール性肝障害を緩和することが報告されている⁴⁾。さらに、SREBP-1c(肝臓にて脂肪酸、トリグリセリドの合成を制御する転写因子)の発現を制御するこ

とで非アルコール性脂肪肝の改善にも効果を及ぼすことが、フルクトースのラットへの投与実験にて示されている⁵⁾。加えて、肝臓における虚血再灌流障害（移植、切除、脳梗塞や心筋梗塞など血液が止まっていた組織に再び血液が流れ込む際に起こる障害）に対しても保護することが示されており^{6, 7)}、この保護作用は腎臓⁸⁾、心臓⁹⁾や脳¹⁰⁾においても示唆されている。

3. 血糖値上昇抑制効果

2017年世界の成人の内約6億人が肥満（BMIが30以上）であると発表された¹¹⁾。肥満は心血管疾患や糖尿病などの原因となり得るが、そのうちの一つである糖尿病に対してOAは主に次の3つの機能が見出されている¹²⁾。1つ目は食後の高血糖の抑制であり、これは、 α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼ阻害によって引き起こされる。2つ目が膵 β 細胞機能の改善（インスリンの分泌を促し、耐糖能を高める）で、この作用機構としては、ムスカリン受容体M3の活性化、炎症性サイトカインの阻害およびTGR5（胆汁酸の受容体）のリガンドとして働くことなどが挙げられる。3つ目がインスリンの応答を促進する効果で、プロテインチロシンホスファターゼ1Bの阻害によって引き起こされる。この様な作用によりOAは血糖値の上昇を抑制する。さらに、インスリンの様な一般的な抗糖尿病治療薬は脂肪の蓄積によって体重増加をもたらすが、OAは用量依存的に脂質蓄積を妨げる効果も示されている¹³⁾。この点からもOAは有用と考えられる。

4. 心血管疾患に対する作用

心血管疾患の主な原因としては高血圧、高血糖、或いは高脂血症などが挙げられる。OAは利尿作用によって高血圧を抑制し、同時に抗高脂血症、抗酸化や血糖低下作用などを示すことが報告されている¹⁴⁾。さらにOAが内皮依存性のNO放出を引き起こすことで平滑筋細胞内のカルシウムイオン濃度を減少させ、血管の弛緩を引き起こして血圧の上昇を抑制するとの

報告もある¹⁵⁾。さらに、高血圧を始め脳梗塞、心筋梗塞などの重大な疾患に関わる動脈硬化への作用も報告されている。動脈硬化の原因としては低密度リポタンパク質（LDL）の酸化や血管壁を形成する平滑筋細胞の増殖などが挙げられており、OAがこれらを抑制することが報告されている^{16, 17)}。

5. 抗菌・抗ウイルス作用

OAおよびUAの抗菌・抗ウイルス活性については既に総説¹⁸⁾にてよくまとめられている。

まず抗菌作用として、う蝕（虫歯）に対する作用が報告されている。う蝕の最も初期の原因としては不溶性グルカン（プラークやバイオフィームと呼ばれる物質）の形成が挙げられる。不溶性グルカンは*Streptococcus mutans*の分泌するグルコシルトランスフェラーゼに触媒されて産生するが、OAはこの不溶性グルカンの産生を阻害する。さらに結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）や薬剤耐性結核菌（ストレプトマイシン、イソニアジド、リファンピン、エタンブトール）のほか、肺炎レンサ球菌、メチシリン感受性・耐性黄色ブドウ球菌、セレウス菌、腸球菌、緑膿菌などの増殖を抑制するが、詳しい作用機序はあまり分かっていない。大腸菌に関する研究においては、菌内に取り込ませた薬剤の排出を妨げることで直接的に大腸菌の生存を妨げることが示唆されている。

次に、抗ウイルス活性としてHIVウイルスに対する作用を紹介する。OAおよびその誘導体はHIV-1プロテアーゼを阻害することにより、未成熟で非感染性のビリオン（細胞外でのウイルスの状態）を生産し、HIVのライフサイクルを遮断する。さらに、末梢血単核細胞（PBMC；末梢血から分離された単球やリンパ球を含む単核球）を、HIV患者および健康な人から採取した後HIV-1に感染させたものに対しては、アジドチミジン（エイズ治療薬）に匹敵するウイルス複製の抑制を示す。また、OAは肝炎ウイルスに対する作用も知られている。B型あるいはC型肝炎ウイルスには約5億人の

人間が感染しているが、このことは肝臓の線維化や肝硬変、最終的には肝臓がんにつながるため重要な問題である。OA は C 型肝炎ウイルス (HCV) の除去に有効であり、この作用機序としては、OA が HCV の RNA 複製に関与する中心酵素 (NS5B, RdRp) のはたらきを抑制する。尚、B 型肝炎ウイルスに対しては UA が効果を発揮するようである。また、単純ヘルペスウイルス (HSV) への効果も示されている。抗ヘルペスウイルス薬としてはアシクロビルが広く使用されているが、耐性株の出現などの問題がある。OA の HSV への作用機序としては、マクロファージを活性化して IL-6 および IL-12 の放出を誘導することによる。

さらに OA は、様々な原虫への抗寄生効果も示す。中でもマラリアは 100 以上の国々に分布し、世界人口の 40% 近い人々がその危険に曝されている。抗マラリア薬は既に存在しているが、その薬剤耐性の問題から新たな抗マラリア薬が望まれている。マラリア原虫は血液中の赤血球に好んで寄生するが、*in vitro* において OA は赤血球膜に組み込まれ、赤血球を口状赤血球へと変形させた¹⁹⁾。この作用によりマラリア原虫の成長を阻害している。

6. 皮膚に対する作用

OA は皮膚に対する保護作用も報告されている²⁰⁾。角化細胞 (ケラチノサイト) は表皮の大部分を構成しているが、OA 処理したケラチノサイトは分化が誘導される。この作用機構としては、PPAR- α (血中トリグリセライドの低下に関わるが、表皮にも発現しており、脂腺細胞の活性、表皮でのバリア機能や損傷した皮膚の修復等に関わっている²¹⁾) 活性の増大が示されている。さらに、育毛を促進する効果も報告されており、毛包 (毛根を包む組織) を OA 処理することで、毛髪における成長期に相当する毛の伸長を示した²²⁾。これは、OA が Wnt/b- カテニン経路を介して毛母細胞の増殖を刺激することで毛の成長を促進し得るためとのことである。

7. 抗がん作用

がんは日本人の死因の 1 位を占めている。OA の抗がん作用についてはがん細胞の浸潤・移行、活性酸素 (ROS)、一酸化窒素 (NO)、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の発現を抑制し、アポトーシスや細胞周期の停止を誘導することで、多様な種類の癌 (肝臓、膵臓、肺腺、乳、結腸、メラノーマ、骨肉種、白血病、さらには多剤耐性癌細胞) に作用することが総説にまとめられている²³⁾。

おわりに

オレアノール酸は、これまで述べたように多様な生理活性を示す。さらに、オリーブにはウルソール酸など、ほかのトリテルペンも含まれており、これらも多様な機能性を示す。当社が開発したオレアノール -55 は、オレアノール酸を 55% 以上、さらにウルソール酸、マスリン酸あるいはウバオールなどを含めたトリテルペンとしては 85% 以上を含有するオリーブ葉 100% のエキスパウダーである (表 1)。我々は、オレアノール -55 が、健康食品素材、化粧品あるいは医薬品などの原材料として期待できると考えている。

表 1 オレアノール -55 の規格項目

規格項目	規格値
性状	淡緑黄色から黄色の粉末
乾燥減量	5 % 以下
強熱残分	5 % 以下
重金属	20 μ g/ g 以下
ヒ素	2 μ g/ g 以下
一般細菌数	1000 個/ g 以下
大腸菌群	陰性
オレアノール酸含量	55.0 % 以上
カビ、酵母	100 個/ g 以下

※トリテルペン：85% 以上、※消費期限：未開封暫定 3 年

表 2 オレアノール -55 の安全性試験結果

試験項目	結果
急性毒性 (限度試験・雌雄ラット)	2.0 g/ kg 以上
反復投与毒性試験 (28 日間・雌雄ラット)	無毒性量 250 mg/ kg
Ames 試験	陰性
残留農薬	適合

参考文献

1. Liao S. G., Wang Z., Wu Y. Y., *et al.*: Report: structures and hepatocytotoxicity of co-occurring substances in oleanolic acid tablets., *Pak J Pharm Sci.* **27**(3): 601-605, 2014.
2. Liu J., Wu Q., Lu Y., *et al.*: New insights into generalized hepatoprotective effects of oleanolic acid: key roles of metallothionein and Nrf2 induction., *Biochem Pharmacol.* **76**(7): 922-8, 2008.
3. Pollier J., Goossens A.: Oleanolic acid., *Phytochemistry.* **77**: 10-15, 2012.
4. Liu J., Wang X., Liu R., *et al.*: Oleanolic acid co-administration alleviates ethanol-induced hepatic injury via Nrf-2 and ethanol-metabolizing modulating in rats., *Chem Biol Interact.* **221**(25): 88-98, 2014.
5. Tokuda H., Ohigashi H., Koshimizu K., *et al.*: Inhibitory effects of ursolic and oleanolic acid on skin tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Lett.*, **33**(3): 279-285, 1986.
6. Gui B., Hua F., Chen J., *et al.*: Protective effects of pretreatment with oleanolic acid in rats in the acute phase of hepatic ischemia-reperfusion injury: role of the PI3K/Akt pathway. *Mediators Inflamm.* **2014**: 451826, 2014.
7. Hao B. B., Pan X. X., Fan Y., *et al.*: Oleanolic acid attenuates liver ischemia reperfusion injury by HO-1/Sesn2 signaling pathway. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* **15**(5): 519-524, 2016.
8. Long C., Yang J., Yang H., *et al.*: Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by oleanolic acid preconditioning via its antioxidant, anti inflammatory, and anti apoptotic activities. *Mol Med Rep.* **13**(6): 4697-4704, 2016.
9. Du Y., Ko K. M.: Effects of pharmacological preconditioning by emodin/oleanolic acid treatment and/or ischemic preconditioning on mitochondrial antioxidant components as well as the susceptibility to ischemia-reperfusion injury in rat hearts. *Mol Cell Biochem.* **288**(1-2): 135-142, 2006.
10. Cho S. O., Ban J. Y., Kim J. Y., *et al.*: Anti-ischemic activities of aralia cordata and its active component, oleanolic acid. *Arch Pharm Res.* **32**(6): 923-932, 2009.
11. The GBD 2015 Obesity Collaborators: Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years, *N Engl J Med.* **377**(1):13-27, 2017.
12. Rodriguez-Rodriguez R.: Oleanolic acid and related triterpenoids from olives on vascular function: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem.* **22**(11): 1414-1425, 2015.
13. Sung H. Y., Kang S. W., Kim J. L., *et al.*: Oleanolic acid reduces markers of differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *Nutr Res.* **30**(12): 831-9, 2010.
14. Somova L. O., Nadar A., Rammanan P., *et al.*: Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension., *Phytomedicine.* **10**(2-3): 115-121, 2003.
15. Rodriguez-Rodriguez R., Stankevicius E., Herrera M. D., *et al.*: Oleanolic acid induces relaxation and calcium-independent release of endothelium-derived nitric oxide., *Br J Pharmacol.* **155**(4): 535-546, 2008.
16. Andrikopoulos N. K., Kaliora A. C., Assimopoulou A. N., *et al.*: Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. *J Med Food.* **5**(1): 1-7, 2002.
17. Han D., Zhang X., Zhang J., *et al.*: Oleanolic acid suppresses vascular smooth muscle cell proliferation by increasing lincRNA-p21 expression., *Oncol Lett.* **12**(5): 3519-3522, 2016.
18. Jesus J. A., Lago J. H., Laurenti M. D., *et al.*: Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: an update. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2015**: 620472, 2015.
19. Sairafianpour M., Bahreininejad B., Witt M., *et al.*: Terpenoids of Salvia hydrangea: two new, rearranged 20-norabietanes and the effect of oleanolic acid on erythrocyte membranes. *Planta Med.* **69**(9): 846- 850, 2003.
20. Lee H. K., Nam G. W., Kim S. H., *et al.*: Phytocomponents of triterpenoids, oleanolic acid and ursolic acid, regulated differently the processing of epidermal keratinocytes via PPAR-alpha pathway. *Exp Dermatol.* **15**(1): 66-73, 2006.
21. Michalik L., Wahli W. : Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in skin health, repair and disease. *Biochim Biophys Acta.* **1771**(8): 991-998.
22. Liu B., Chen X., Yi H., *et al.*: β -Catenin is involved in oleanolic acid-dependent promotion of proliferation in human hair matrix cells in an in vitro organ culture model. *Fitoterapia.* **121**: 136-140, 2017.
23. Sánchez-Quesada C., López-Biedma A., Warleta F., *et al.*: Bioactive properties of the main triterpenes found in olives, virgin olive oil, and leaves of Olea europaea., *J Agric. Food Chem.*, **61**(50): 12173-12182, 2013.

第3章 アドベンチストと他者のがんの割合

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

がんは、基本的には、細胞増殖と部位の調節機構の傷害である。正常な細胞は、増殖率を制限する機構が備わっているため、少なくとも幼児期の成長が止まった後の他の細胞が死んだところのみに新規の細胞が現れるのである。器官はこれらの方法により形や機能の統合性を保持している。固定器官の正常細胞の殆どは動くことはないことや、血液やリンパ循環に侵入することは決してなく、幾分離れた器官で定着し増殖する(転移)ことを調節機構は保証している。それでも、転移後は、多くのがんでは最新の治療法でも治癒できないことが起こっている。もし、治療をしないとすると、転移のないがんでも元になった器官で急速に成長し腫瘍を形成するかも知れない。これらのことは器官の機能を妨げ、他の周囲の構造に障害を及ぼすかも知れない。

調節から逃避するという、細胞に基から存在する欠陥は、核の DNA に広く分布している。言葉を替えて言えば、もし、ある種の重要な遺伝子が傷ついたり変異したりした場合、細胞はもはや正常な動きはしなくなるだろう。(Ruoslahti, 1996; Weinberg, 1996) 体はいくつもの補助機能や緊急体制は持っていない。また、実際、細胞はがんになる前に複合的な変異を蓄積していることをエビデンスは示唆している。

DNA は、いくつかの異なるプロセスで障害を受ける。少数のがんは遺伝性がある。これらのケースでの損傷した DNA は、両親から受け継がれる。他の傷害要因として、自然放射線を

含む放射線や DNA を結合したり変化させる化学物質への暴露がある。これらはタバコの煙に含まれる化学物質であったり、フリーラジカルがある。後者は、体の代謝で通常生じる高い活性を持つ分子種であるが、一般的にはすばやく不活性化される。殆どのがんはウイルスが原因ではないが、子宮頸がんと肝がん(及びいくつかのまれな腫瘍)は、明らかにある種のウイルスが、感染により細胞核に及ぼす障害の一部である。(Trichopoulos *et al.*, 1996)

老化そのものはがんを発生させるに十分な、修復できない遺伝子の傷害の蓄積の結果であり、それは単に環境のハザードに長期間晒されたことによる。事実、細胞は損傷 DNA を検知し修復する良く知られた機構を持っているが、修復機構は加齢と共に十分に機能しなくなり、多くのエラーを残してしまうことになる。損傷 DNA の蓄積を正常に阻止する他の機構はアポトーシスやプログラム化された細胞死であり、そこでは、細胞は自身の修復不可のエラーを検知し、自殺するのである。しかしアポトーシスで調節された遺伝子そのものは何度も障害を受け、DNA に深刻なエラーのある細胞は、自爆するより生き残るのである。(Weinberg, 1996)

老齢の細胞では、有害なフリーラジカルを「掃投」する生化学的メカニズムはあまり効率的でないため、結果として、細胞が損傷した環境となってしまう。(Banks and Fossel, 1997) 肝臓は、がんを生成する化学物質を化学的に結合したり、中和したりする数多くの酵素を生産する。

*¹ ロマリンダ大学メディカルセンター教授, *² ニュートリション・アイ

しかし、加齢と共に、これらの酵素は十分でなくなってしまう。(Abrass, 1990) 最終的には、殆どの他の生体系と共に免疫系の効率は減じてしまう。(Hirokawa, 1992) がんの初期段階に発展する異常な細胞は、通常通り免疫系によって検知されず、また、リンパ節やマクロファージによって破壊もされないので、このことは重要である。

がん細胞は、われわれ全てで、ある程度恒常的に生成されている一方、大多数は、検知され、破壊されるかアポトーシスを受けている。しかし、このような細胞が生き残ったとしても、急速に分裂しない限り、その人の余生に亘っては、症状を起こす程の十分な大きさの腫瘍を形成することはないかも知れない。従って、がん細胞のイニシエーションは重要であるけれど、急速な成長促進は、腫瘍がいかに早く成長するか、臨床的な問題を引き起こすかどうかを決定している。細胞の急速な成長を促進する因子は、エストロゲンやインスリン等のホルモンで、また、細胞分裂を増加させるような遺伝子発現を変化させるある種の化学物質である。食事の脂肪やカロリーの大量摂取は、腫瘍増殖を促進する。(Potter, 1997) しかし、ビタミンDは、抗促進活性を有している。

この様に、遺伝的要素は大きく関与しているが、環境要因や個人の選択は、また、リスクに影響を及ぼすことは明らかである。(Schottenfeld and Fraumeni, 1996) ある種の職業は、がん生成の化学物質や放射線に晒されるリスクに関与している。閉経後の女性の肥満は、血中エストロゲン濃度を上昇させ、また、男女において、しばしば、より高いインスリン濃度を生じさせる。また、妊娠の時期や女性の妊娠可能な期間は、ホルモンレベルに影響を及ぼす。定期的な運動やカロリーの少ない食事は、肥満の予防に役立ち、免疫系を賦活する。もし、健康的な選択が、老化の生化学的な変化を遅延することが可能とする（まだ、証明されていないが）ならば、予防作用のある酵素系や免疫系の効果による低下の遅延は、リスクを減少することになる。

食事の選択は、様々な異なる手段で、がんの低下にもなるし、促進にもなる。果物や野菜の豊富な食事は肥満を抑制し、腫瘍の成長を助長する過剰なカロリー摂取を制限することができる。食事からの抗酸化物質は、フリーラジカルを不活性化し、他の食品因子は、肝臓の酵素の解毒化を活気づけさせる。詳細は6章に示される。

一般的に、疫学者は、問題になる程度までがなが誘起されるのは環境によると考えている。(National Academy of Science, 1982) 特に、米国では、食事の変更はがん死を35%低下させる潜在能力を有していると推定されている。(Doll and Peto, 1981) こうして、一般的に保守的なライフスタイルのアドベンチストは、他の人よりも運動を良く実施し、平均して、果物や野菜を良く食べ、肉は少ないので、ある種のがん、また、恐らく全てのがんに対して異なる症例を持っている。



他の国に居住するアドベンチストと 非アドベンチスト間のがんの比率

冠状動脈心疾患の比較に関し、カリフォルニア、ノルウエー、オランダ、日本とデンマークでの地域住民をベースにした研究が、同じ地域に居住するアドベンチストと非アドベンチストのいくつかの異なる部位のがんの死亡率と罹患率を比較する機会を提供している。ノルウエー、オランダ、デンマークと日本でのがんの種類と死亡を確定するために、アドベンチストと非アドベンチスト両者間のケース研究として、国家登録簿が用いられた。オランダでは、教会の記録が対象とするアドベンチストの生存を確認するために用いられた。もし、後者が何らかのバイアスを生じるとすると、さらに詳細なフォローアップ研究によって、アドベンチスト率をおそらく上げるだろう。

より詳細な研究デザインとがん症例数は、表A-7 参照。

表 3-1 アドベンチストと非アドベンチストの全部位標準化がん死亡率と罹患率の比較（米国以外）

国	男性	女性
<年齢補正 死亡率比（95% 信頼区間）>		
日本	0.3*a	0.78a
オランダ （ノルウェー）	0.5（0.41-0.6）b	
全年齢	0.92a	0.99a
75 歳以上	0.78（0.61-0.99）	0.94（0.79-1.11）
75 歳未満	1.04（0.87-1.27）	1.04（0.88-1.21）
<年齢補正 罹患比（95% 信頼区間）>		
デンマーク （ノルウェー）	0.7（0.5-0.9）	無
全年齢	0.91（0.81-1.03）	0.97（0.89-1.06）
75 歳以上	0.82a	0.93a
75 歳未満	1.03a	1.03a

*：p<0.01，但し，がんは7名のみ（日本人女性26名中）

a：信頼区間なし。既存データからの算出は不可。

b：男性，女性の混合

出典：Kuratsune ら，1986;Berkel と deWaard, 1983;Fonnebo と Helseth, 1991;Jensen1983.

表 3-2 アドベンチストと非アドベンチスト対象の部位特異的標準化がん死亡率（SMR）と発生率（SIR）の比較（米国以外 a）

がん部位又はタイプ	国	SMR 又は SIR	95%信頼区間
<がん死亡率（SMR）>			
乳房	オランダ	0.50	0.41 ～ 0.60
肺	オランダ	0.45	0.23 ～ 0.79
大腸	オランダ	0.43	0.24 ～ 0.71
胃	オランダ	0.59	0.34 ～ 0.96
<がん発生率（SIR）>			
乳房 b	ノルウェー	0.91	0.70 ～ 1.17
呼吸器 b	ノルウェー	0.59	0.36 ～ 0.91
胃腸 b	ノルウェー	0.85	0.69 ～ 1.03
消化器	デンマーク（男性のみ）	0.80	0.50 ～ 1.10
大腸	デンマーク（男性のみ）	0.80	なし
胃	デンマーク（男性のみ）	1.10	0.50 ～ 2.00
前立腺 b	ノルウェー	0.98	0.64 ～ 1.45
男性性器	デンマーク	0.90	0.40 ～ 1.70
女性性器 b	ノルウェー	1.14	0.89 ～ 1.44
泌尿器	ノルウェー	0.83	0.53 ～ 1.24
造血関連	ノルウェー	1.06	0.73 ～ 1.49

a：アドベンチストにみられるケースで，少なくとも10名の死亡者からの引用の結果

年齢と性別を標準化した日本人は除外

b：75 歳未満で発生したがんの結果

出典：Berkel and deWaard, 1983;Fonnebo and Helseth, 1991;Jensen, 1983.

若年のアドベンチスト男性の全ての部位のがん率は，緩やかな低下を示し，恐らく，若年のアドベンチスト女性は，死亡率の方が罹患よりも明らかであることを国家間のエビデンスは示

唆している。（表 3-1）

この記述は，ノルウェー（Fonnebo と Helseth, 1991）；日本（Kuratsune ら，1986）；デンマーク（Jensen, 1983）；オランダ（Berkel と

deWaard, 1983) らのデータを要約したものである。

オランダに於いての部位特異的がんの比較(表 3-2 参照) は、1.0 の空値よりかなり低い死亡率比を示している。(1.0 は、アドベンチストと非アドベンチストの結果には違いがないことを示している) これは、適正な研究数を示している 4 種のがん全てで事実である。ノルウエーとデンマークの罹患率は、アドベンチストの死亡率比に見られるものよりも緩慢な低下を示しているが、信頼区間は広い。要約すると、アドベンチストの乳がんと消化器系のがんの死亡率と罹患率は低い傾向であることを示しているが、男女共、性器がんについては有意性のエビデンスは少ない。

ノルウエー人のアドベンチストのがん死亡率に対する予防効果のエビデンスは、75 歳未満に限られていて、SMR は 78 である。(95% 信頼区間は、61-99) (Fonnebo and Helseth, 1991) 教会に参加する年齢で、19 歳未満、19 ～ 34 歳、35 歳以上に分けると、全部位がんの死亡率の優位性は、最初の 2 つのグループのみに見られる。(Fonnebo, 1992) これらの異なる年齢

の SMRs は各々、88, 67, 106 で、男性で 75, 79, 女性で 114 であり、より若い年齢の予防効果を示唆している。冠動脈疾患については、「参加効果」か「暴露期間の効果」として解釈が可能である。(2 章参照)



カリフォルニアの研究

アドベンチストと他のカリフォルニア人との がん死亡率比較

がん死亡率比は、アドベンチストの死亡率研究での知見を同時期の非アドベンチストのカリフォルニア ACS 研究と比較した場合、アドベンチストに大抵似ることになる。(表 3-3 参照) (Phillip ら, 1980a) この優位性は一部、喫煙をしないことによることは明らかである。もし、喫煙習慣のあるアドベンチストと非アドベンチストの両者を除くと、全がん(男性)と肺がん(男女)の死亡率比は空値に大きくシフトすることになる。このことは、喫煙は肺がんや他のいくつかのがんの死亡率の重要な指標であることを示していて、アドベンチストの縮小の一部を説

表 3-3 カリフォルニアアドベンチストと非アドベンチストのがん死亡率比較：アドベンチスト死亡率 (1960-1976) と米国がん協会 (1960-1971) 研究 a

がん部位又はタイプ	性別	年齢補正死亡率	
		全ての対象	アドベンチストと非アドベンチストの非喫煙者
全がん	男性	0.60**	0.85
	女性	0.76**	0.78**
肺がん	男性	0.18**	0.67
	女性	0.31**	0.42**
大腸がん	男性	0.62**	0.67
	女性	0.58**	0.56**
胃がん	男性	1.41	1.02
	女性	0.89	0.80
リンパ腫、白血病	男性	0.86	0.93
	女性	1.00	0.89
前立腺がん	男性	0.92	0.93
乳がん	女性	0.85	0.81*

* $p < 0.05$ - 死亡率 = 1.0 の帰無仮説をテスト

** $p < 0.01$

a: マンテル-ヘルツエル層別解析

明している。

喫煙者が解析から除かれると、アドベンチストは、肺、大腸、乳がんと全がんでかなり低い死亡率を示すことになる。死亡率の低下を支持するエビデンスは、女性では明らか（約22%の低下）であるが、男性では、全がん及び肺がん、大腸がんには、同様の有意差は見られなかった。この死亡率の低下は、喫煙をしていないことには起因せず、アドベンチストと他の人との食事やライフスタイルの違いに起因するようである。

上記の結果の問題点は、多くの部位で、殆どの新規のがんは分析から除外されていることである。このことは、これらの死亡率研究では、死亡で終わるものだけが測定されるからである。肺がん、結腸がんや前立腺がん等の一般的ながんについては、殆どの人が生き残っている。従って、上記の結果は、起きているほんの僅かに関係しているだけである。

つい最近のアドベンチスト健康調査は、致死性と非致死性の両方のフォローアップの期間中で、新規ながんを発見できるようにデザインされている。同時期（1976年-1982年）での、非アドベンチスト間の全ての新規ながんが含まれている比較のデータがあれば、もっと有益な比較が可能となる。この時期のカリフォルニアの人口を反映している2つの腫瘍登録機関がある。両方共、主要な都市部をカバーしており、ロサンゼルス地区腫瘍登録機関とオークランド・ベイ地区腫瘍登録機関である。アドベンチストがカリフォルニア地区の全ての地域に住んでいるので、アドベンチスト・コホートでの地理的な重なりが不完全であるけれど、これらは入手可能な非アドベンチストの優れた比較発生データである。

北と南カリフォルニアでのアドベンチストの地理的分布を反映する2つの年齢別腫瘍登録率の計量に基づいて、アドベンチストの予測発生数が計算された。これらは、アドベンチスト集団の中で、非アドベンチスト率が適用された場合の発生数である。これらは、年齢補正群の発

生率を作成するために、実際にアドベンチスト間で見られるがん数と比較されたものである。

正確な比較を実施するために、がん部位を決定する疾患国際的分類（ICD）コードと当該部位の組織構造か又は細胞の種類を決定するICD0コードは、分析前に決められた。上皮がんのみが特別ながんとして含まれていて、腫瘍の大多数を示していた。カルチノイドがんや肉腫等のまれながんのタイプは部位特異的分析からは除外されたが、全部位の比較の中には含まれている。黒色腫は別として、皮膚がんは比較対象からは除外された。

最初の診断でプロGRESSIONに進行したがんは、すでに浸潤したものと、しばしば、分離した形で確認された。この違いは重要で、なぜなら、もしアドベンチストが平均的に良好な医療を受ける手段を有し、健康意識が高いと考えるならば、多くのがんは比較的に初期に発見されるかも知れないからである。浸潤したがんが分離して考慮された際には、アドベンチストの優位性はより明らかになる。

ロサンゼルスとオークランド・ベイ地域の中の、同年齢のカリフォルニア人と比較した場合、男女共、カリフォルニアのアドベンチストは、全てではないが、多くの部位で新規のがん率は有意に低いことを示している。総じて、浸潤結腸がんは33%、胃がんは59%、浸潤膀胱がんは61%、腎臓がんは60%、肺がんは80%、すい臓がんは34%低かった。女性の生殖器官については、浸潤乳がんは23%、浸潤卵巣がんは30%、浸潤頸がんは54%低かったが、アドベンチスト女性の子宮がんは高い疑いがあった。アドベンチスト男性については、浸潤及び全ての前立腺がんについて低い発生率というエビデンスはなかった。アドベンチストの浸潤黒色腫率は、わずか11%低く、違いと言える程でなく、神経組織がん、白血病、リンパ腫はアドベンチスト間では違いは明らかでなかった。喫煙に関係する部位については、予想のごとく、アドベンチストは69%低く、全部位の低下率は31%である。

表 3-4 カリフォルニアアドベンチストのがん発生率の比較で、ロサンゼルス地区とオークランドベイ地区にある一般人の腫瘍登録機関での統計（1976 年 -1982 年）

がん部位又は タイプ	組織 構造	男性		女性		全体	
		標準化 発生比率	95%信頼区間	標準化 発生比率	95%信頼区間	標準化 発生比率	95%信頼区間
結腸	全	0.55	0.41-0.74	0.75	0.61-0.93	0.67	0.57-0.80
	浸潤	0.54	0.40-0.73	0.75	0.61-0.93	0.67	0.56-0.80
胃	浸潤	0.43	0.23-0.80	0.38	0.19-0.76	0.41	0.26-0.65
膀胱	全	0.42	0.28-0.63	0.55	0.34-0.90	0.46	0.34-0.63
	浸潤	0.38	0.25-0.59	0.40	0.22-0.72	0.39	0.27-0.55
腎臓	浸潤	0.32	0.13-0.76	0.52	0.23-1.16	0.40	0.22-0.73
黒色腫	浸潤	0.90	0.55-1.47	0.89	0.56-1.39	0.89	0.64-1.24
リンパ腫	浸潤	1.33	0.93-1.90	1.16	0.84-1.60	1.23	0.97-1.56
白血病	浸潤	1.04	0.67-1.59	0.92	0.60-1.42	0.98	0.73-1.32
肺	浸潤	0.17	0.11-0.25	0.25	0.17-0.37	0.20	0.15-0.27
すい臓	浸潤	0.53	0.29-0.96	0.75	0.49-1.14	0.66	0.34-0.74
脳 / 神経組織	浸潤	1.32	0.75-2.33	1.10	0.62-1.94	1.20	0.80-1.79
乳	全	NA	NA	0.78	0.68-0.89	NA	NA
	浸潤	NA	NA	0.77	0.67-0.89	NA	NA
卵巣	浸潤	NA	NA	0.70	0.48-1.03	NA	NA
頸	全	NA	NA	0.46	0.31-0.68	NA	NA
	浸潤	NA	NA	0.41	0.21-0.83	NA	NA
子宮	浸潤	NA	NA	1.27	1.05-1.53	NA	NA
前立腺	全	1.09	0.93-1.28	NA	NA	NA	NA
	浸潤	1.03	0.88-1.21	NA	NA	NA	NA
喫煙関連部位	浸潤	0.24	0.19-0.31	0.40	0.32-0.49	0.31	0.26-0.36
全部位	浸潤	0.61	0.55-0.67	0.74	0.69-0.80	0.69	0.65-0.73

浸潤がんのみと比較した「全がん」をいくつかのがんに区分けすると、アドベンチストと非アドベンチストの比較では、小さな違いがあった。殆どのケースで、浸潤がんに限定してみると、アドベンチストは低い相対リスクを示した。このことは、アドベンチストは、恐らく、予防手段や健康管理への姿勢に対し、かなりの関心があるので、初期段階でのがんの診断が比較的多いとの推測が成り立つ。

この様に、アドベンチストは、解剖学的部位のがん罹患率と死亡率が低いことをエビデンスが示している。ノルウェーでは、75 歳未満の人は、がん罹患率をもっと明白である。（表 3-1）カリフォルニア AHS の中で、類似の年齢の仕分けを行うと、74 歳以上のアドベンチストでは、明らかに低い率であるが、一般的ながんの殆どについて、標準化死亡比は、以前よりは 1.0 に近づく。アドベンチスト間の全年齢群

でわずかに低い率しか示さない 3 種のがん（子宮、前立腺、リンパ腫）（表 3-4）は、老人でも類似の状態を示している。全てのがんを統合すると、75 歳以上の標準化死亡比は、0.77 で（信頼区間、0.7-0.85）、リスクの低下は 23%である。この様に、アドベンチスト高齢者のカリフォルニア率は、非アドベンチスト高齢者より有意に低いのであるが、ノルウェー人の結果は少し確定的なところがある。このことは、アドベンチズムに関係する予防的要素は、集団の年齢としては、比較的弱い影響力であるが、何らかの影響は持続している。循環器疾患死亡率と全死亡率は、7 章で論議されるが、生活環境要因への対応力が低い高齢者については、遺伝的及び代謝の影響が重要度を増しているように思える。いくつかのがんについて、かなり低いアドベンチスト・リスクは、少なくとも、喫煙がないことによるだろう。肺、膀胱、恐らく胃や頸がん

が相当する。しかし、全体を考えると、他の要因もまた重要である。不幸にも、がん登録は、喫煙習慣のデータは収集していないので、最近の AHS 比較の中では、アドベンチストと非アドベンチストの非喫煙者の率の比較は困難である。

異なる習慣（但し、全て非喫煙者）を持つアドベンチストの比較研究は、食事因子は多くのがんの重要な決定因子であることを強く示唆しており、他の集団の研究によって、確認されている。従って、他者と比べたアドベンチストの低率は、一部、食事の違いに関係していると考えられる。他の推測される要因として、運動量、比較的少ない肥満や飲酒をしないことが挙げられる。

アドベンチストについて、がん低率のパターンが見られない解剖学的部位は少ない。定常的にアドベンチストの優位性が少ないか殆ど見られない部位は、男性で、神経系と前立腺で、女性では子宮である。これらの部位のがんは、比較的一般的なので、信頼区間はカリフォルニア・アドベンチストのデータでは過度に広くはなく、これらの否定的な結果は偶然によるものでないことを示している。初期の AMS/ACS やノルウェーの結果では、これらのがんがアドベンチストでは低率であることを示唆していない。（表 3-2, 3-3）

前立腺がん率に関して、診断バイアスがアドベンチストと非アドベンチスト間の比較を混乱させている。浸潤前立腺がんさえも、しばしば無痛で、長期にわたり比較的無症候性の生存を示す。従って、無症候の患者の検査では、初期のものと浸潤がんが発見されるかも知れない。アドベンチストは、恐らく、デジタルの直腸検査や PSA 検査等の定常の検査を受診する傾向にあるので、がんが発見され、治療する傾向にある。また、このようなバイアスは、子宮がんでも起こり得るが、妥当性は少ない。選択肢としては、アドベンチストは前立腺がんか子宮がんは低率でないことであるが、少なくとも前立腺がんについては、少し意外である。というのは、食事は殆どのがんに対し、リスクを低下させるという強力なエビデンスがあるからである。（6 章参照）

アドベンチストと他者（喫煙を含む）とのライフスタイルの違いは、結腸、胃、膀胱、腎臓、肺、すい臓、乳、卵巣、子宮がんの病因学について、恐らく、重要な要因となる。この分析は神経系がん、黒色腫、リンパ腫、白血病、子宮がんに対しての役割という点では強く支持することはないが、前立腺がんと言ったように、歪曲やバイアスの可能性があり、この結論は暫定的と言える。

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)

レンギョウ *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl (モクセイ科 Oleaceae)

3月に入り、ようやく春めいてきた山里を歩いていると、民家の庭などで黄色の花を枝いっぱいにつけた灌木を見かけることがあります。これがレンギョウです。本植物は中国原産で、日本へは平安時代初期に渡来したとされ、庭などにも植えられる雌雄異株の落葉低木で、樹高は1～3m、繁殖力は旺盛でよく繁り、半つる性の枝は湾曲して下に垂れるようにして伸び、地面に接触すると、そこからも根を出して新しい株ができます。枝は始め、竹のような節を持つのですが、枝の髓が早期に消失するため、節の部分を除いて中空になります。このことから“空の木”，レンギョウウツギ（連翹空木）という別名がつけました。この名は、本来の連翹（トモエソウ）との誤用に気付いた時期、両者を区別するのに使われたそうです。レンギョウの花は、まだ葉が芽吹く前の早春（3～4月頃）、2～3cmの黄色い4弁の花が、多数、細い枝に密に開き、花が咲き終わる頃、今度は入れ違うかのように、緑色の葉（長さ3～10cm、幅2～5cmの長卵型。葉先は鋭尖で、葉縁にまばらな鋸歯がある）が対生に芽吹き、葉は秋になると濃緑色、黄緑色、紫色と変色し、最後に落葉し、実った果実は生薬として用いられます。

「レンギョウ」として一般に植栽されているのは、レンギョウ、シナレンギョウ *Forsythia viridissima*、チョウセンレンギョウ *Forsythia viridissima* var. *koreana* の3種です。これらはよく似ていますが、幹を縦に切ると、レンギョウは芽の出る部分以外が中空、シナレンギョウは芽の出る部分を含み細かい梯子状の髓があり、チョウセンレンギョウは芽の出る部分以外に細かい梯子状の髓があり、葉縁全面に鋸歯があることや葉幅や花冠の裂片がそれぞれシナレンギョウより太いことなどで区別します。また、レンギョウ、チョウセンレンギョウの枝は弓なりに長く伸び下垂します



写真1 レンギョウ（花、遠景）



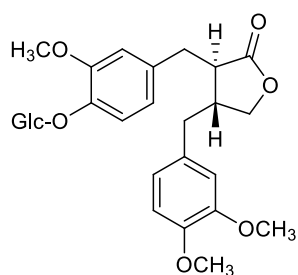
写真2 レンギョウ（花）



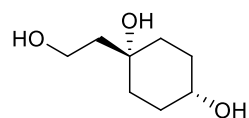
写真3 シナレンギョウ (花)



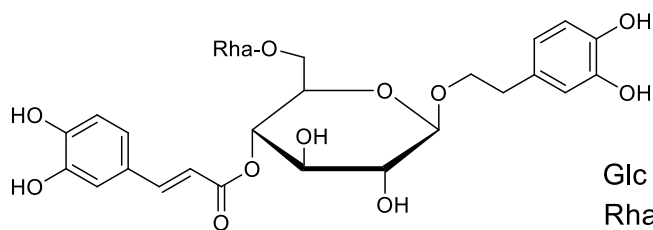
写真4 チョウセンレンギョウ (花)



arctiin

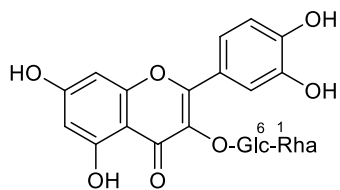


rengyol

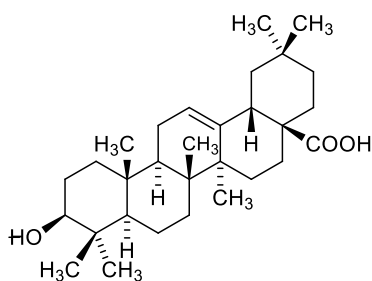


forsythiaside

Glc = glucose
Rha = rhamnose



rutin



oleanolic acid

図1 成分の構造式

が、シナレンギョウは枝が直立し上向きに張って伸びる傾向があります。その他、日本固有種としてヤマトレンギョウ *Forsythia japonica* が中国地方の石灰岩地に分布し、ショウドシマレンギョウ *Forsythia togashii* が瀬戸内海の小豆島の石灰岩地に分布しています。これら日本原産種は、他のレンギョウ類に比べて開花時期が4～5月頃と遅くヤマトレンギョウは葉に先立って花を咲かせ、ショウドシマレンギョウは葉の展開と同時期に独特の緑色を帯びた黄色い花を咲かせます。成熟した果実に蒸気を通したのち、天日で乾燥したものを生薬、レンギョウ（連翹，*Forsythiae Fructus*）といい、消炎，利尿，

解毒，排膿作用があるとしてけいがいれんぎょうとう 荊芥連翹湯，じゅうみはいどくとう 十味敗毒湯，ほうふうつうしょうさん 防風通聖散，ぢづそういつほう 治頭瘡一方，ぎんぎょうげどくさん 銀翹解毒散，きょうせいはいてきがん 響声破笛丸，せいじょうほうふうとう 清上防風湯などの漢方方剤に使われ、成分としてはトリテルペン（oleanolic acid），シクロヘキシルエタン誘導体（rengyol），リグナン配糖体（arctiin），フェニルエタノド配糖体（forsythiaside），フラボノール配糖体（rutin）等が報告されています。レンギョウの中国名は黄寿丹，英名はゴールデンベル golden bells, golden bell flower で，現在も「連翹」と書くと中国ではトモエソウもしくはオトギリソウを指します。また，レンギョウの季語は春であり，4月2日は彫刻家・詩人の高村光太郎（1883～1956）の命日で，これを連翹忌とも呼びます。これは，彼が生前好んだ花がレンギョウで告別式では棺の上にその一枝が置かれていたことに由来しています。



写真5 生薬：レンギョウ（連翹）

機能性物質の養魚用飼料への添加効果－ 2. タウリン

酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi) 山本 眞司 (YAMAMOTO Shinji)* 村田 修 (MURATA Osamu)*

* 近畿大学水産研究所

Key Words: タウリン 養魚用飼料 和金 飼育成績改善 蓄積脂質減少 種苗生産 タウリン含有パン酵母 合成タウリン シオミズツボワムシ マダイ 成長促進 生残率 活力

タウリン (2- アミノエタンスルホン酸) は含硫アミノ酸の一種で、1827 年に雄牛の胆汁中に見出された。タウリンの生理作用は各方面から研究され、抗痙攣作用、アルコール代謝促進作用、血圧低下促進作用、有機リン系農薬の解毒作用、血糖低下作用、コレステロールと胆汁酸の代謝促進作用、肝障害の軽減作用、運動負荷の耐性促進作用等様々な活性が有ることが知られている。

タウリンはネコやヒトの幼児では必須の成分であることが早くから知られていたが、近年魚においても魚種によっては必須成分であることが報告された。

後藤ら¹⁾はブルーギル、ニジマス、コイ、アユ、マダイ、ブリ等の肝臓ホモジネートとタウリン前駆体をインキュベートし、タウリン前駆体からヒポタウリンとタウリンの生成量を OPA- プレラベル HPLC 法で調べた。その結果、魚類のタウリン生合成能は可也の量のタウリンを体内で生合成出来るラット・マウス型、殆ど体内で生合成出来ないヒト・ネコ型、酵素の基質特異性が異なるニワトリ型等に分類出来、多様性に富んでいることを明らかにした²⁾。

本報告では育成用飼料にタウリンを添加して和金成魚を飼育した結果と、タウリンを取り込ませたパン酵母でシオミズツボワムシ (以下ワ

ムシと略記) を培養し、そのワムシを用いてマダイの種苗生産を行った結果を説明する。

和金

魚粉の配合割合が低い飼料で魚、特に海産魚を飼育すると成長が著しく劣り、水温が低下する冬場に肝臓が緑色になる緑肝症が発生することが知られていた。Takagi ら³⁾はマダイ 1 才魚を用いてタウリン (以下 Tau と略記) 無添加の低魚粉飼料で飼育された魚の低い成長と飼料効率、緑肝症の発生などは Tau 不足に原因が有り、低魚粉飼料に Tau を添加することによってこれらの症状は改善されることを明らかにした。

本試験では和金の成魚を用いて飼料への Tau 添加が飼育成績他に及ぼす影響を調べた。なお、和金はコイに近い魚で、コイは Tau 合成酵素である CSD (Cysteinesulfinate decarboxylase)、CAD (Cysteate decarboxylase)、CAO (Cysteamine dioxygenase) の活性は比較的弱いものの、飼料への Tau の添加効果は知られていない。

1. 材料と方法

1-1. 試験飼料

A-E の 5 試験区を設定した。それぞれの飼料の組成と分析値を表 1 に示す。各飼料の基本

表1 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D	E
基本配合 ^{*1}	98	98	98	98	98
α -セルロース	2	1.75	1.5	1	0
タウリン ^{*2}	0	0.25	0.5	1	2
水分 (%)	26.1	25.6	25.2	25.0	24.5
タンパク質	21.3	21.6	22.7	22.7	24.6
脂質	18.3	18.3	18.0	18.5	18.0
炭水化物	22.5	23.6	22.3	21.5	21.1
灰分	7.76	7.72	7.97	7.96	8.31
Cal/100g	294	298	297	300	303
C/P 比	13.8	13.8	13.1	13.2	12.3
タンパク質(%乾物)	28.8	29.1	30.3	30.2	32.5
脂質	24.7	24.6	24.0	24.6	23.8
炭水化物	30.4	31.7	29.8	28.7	28.0
灰分	10.5	10.4	10.6	10.6	11.0
Cal/100g 乾物	398	401	397	400	400

^{*1}: 魚粉 30, 小麦粉 40, 魚油 20, ビタミン混合 4, ミネラル混合 4%。

^{*2}: 日水天然タウリン (NT-P)

配合は魚粉 30, 小麦粉 40, 魚油 20, ビタミン混合 4, ミネラル混合 4% より成っている。この基本配合に Tau (日水天然タウリン NT-P) を 0, 0.25, 0.5, 1 および 2% の 5 段階濃度で添加し, Tau 添加分は α -セルロースで調整した。飼料はシングルモイストペレット (粉末飼料に油と水を添加して混練し, 成型した飼料。以下 MP と略記) とした。製造法は以下の通りである。油以外の原料を混合して粉碎する。これに魚油と水を加えて混練し, 小型のミートチョッパーで成型するのに適した物性になるように加水量を調整する。Tau 添加量が増えるに従って加水量は少なくて済んだ。これは Tau と α -セルロースの吸水性や水溶性等の物性の違いによるものであろう。ミートチョッパーの内刃を取り除いて目皿を選択し, 直径が約 2mm のヌードル状に押し出し成型する。魚が食べられる程度の長さになり, 試験用 MP とした。製造後直ちに -20℃ の冷凍庫に移し, 給餌するまで凍結保存した。給餌前日の夕方に一日の必要量を冷蔵庫に移して解凍し, 魚に与えた。

それぞれの MP の水分と炭水化物含量, カロリー / タンパク質比 (以下 C/P 比) は Tau の添

加量が増えるに従って小さくなり, 逆にタンパク質とカロリー含量は大きくなった。これは加水量の違いと Tau はアミノ酸の一種であるので窒素を含むことによる。炭水化物の変化は α -セルロースの影響と思われる。水分含量の影響を無くするために乾物換算した値を下段に示した。Tau 添加量が増えるに従ってタンパク質が増え, 炭水化物が減少していたが, 脂質と灰分には区間差が無かった。

カロリー含量はタンパク質 4, 脂質 9, 炭水化物 2Cal/g の数値を用いて計算で求め, C/P 比はカロリー含量をタンパク質含量で除して求めた。

1-2. 飼育試験

受精卵からワムシとタマミジンコを用いて種苗生産した後市販の配合飼料を与えて飼育した和金の 3 才魚を供試魚として用いた。100L 容の強化プラスチック角型水槽に各区 15 尾ずつ収容し, 水温 20℃ で 10 月 11 日から 12 月 16 日まで約 2 カ月間飼育した。給餌は日に 3 回 (午前, 正午, 午後) に各 1 回) とし, 食べ残さないように注意して与えた。

1-3. 測定項目

飼育試験開始時, 中間時 (11 月 14 日), 終了時に尾数と総体重を測定し, 生残率と増重量を求めた。中間時と終了時に各区から 5 尾ずつサンプリングし, 以下の処理を行った。FA100 で麻酔し, ペーパータオルで体表の水を拭き取る。体重を測定した後ヘパリン処理した 1mL プラスチック注射筒を用いてキュービエ氏管から各尾等量ずつ採血する。魚体は体型などの異常を観察した後解剖し, 各臓器の状態を観察すると共に重さを測定し, 体重比を求めた。鱗, 血合肉, 皮下脂肪層等を混入しないように注意して各尾から等量ずつ背肉を採取し, 区毎にプールして一般成分の分析試料とした。肝臓も同様に処理した。血液は区毎にプールし, 3000rpm で 15 分間遠心分離して血漿を分離し, 血漿成分の分析に供した。

2. 結果

2-1. 飼育成績

飼育試験の結果を表2に示す。各区共飼育期間中に死魚は無く、生残率は100%であった。乾物の摂餌量はTau添加量が多くなるに従って増えているが、これはTauの添加によって魚の嗜好性が向上したためか、MP摂取可能な消化管容量のためであるかは分からないが、増重量がD区より劣ったE区で最も多い摂餌量を示

表2 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D	E
生残率 (%)	100	100	100	100	100
増重量 (g)					
前半 (10/11-11/14)	108.0	124.5	126.4	154.0	131.1
後半 (11/15-12/16)	62.9	68.2	76.8	82.1	93.6
通期 (10/11-12/16)	170.9	192.7	203.2	236.1	224.7
乾物給餌量 (g)	1037.2	1045.9	1053.0	1056.0	1082.7
乾物飼料効率 (%)	16.5	18.4	19.3	22.4	20.8
タンパク質効率 (%)	57.3	63.3	63.7	74.1	63.9

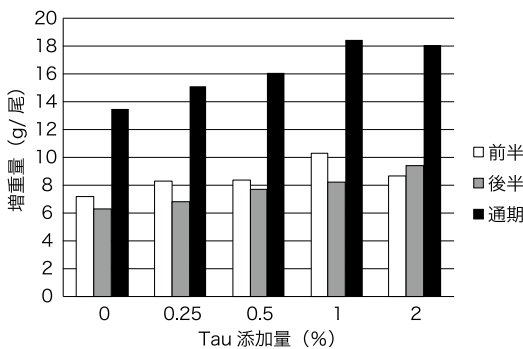


図1 Tau 添加量と増重量

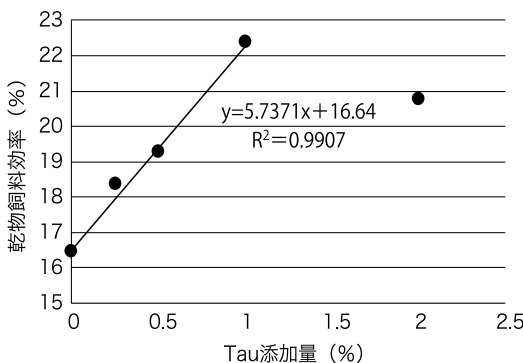


図2 Tau 添加量と乾物飼料効率

したので、Tauの添加によって嗜好性が改善された可能性が高いのではないかと考える。

通期の増重量はTau添加量が1%まで添加量に従って直線的に増加したが、2%になると1%区よりやや低い値を示した。但し、増重量を飼育試験開始時から中間時の前半と中間時から終了時までの後半に分けてみると、図1に示す様に前半では2%添加区は1%添加区より少なかったが、後半では多かった。Tau添加量が2%になると飼育初期には何らかの理由で添加量に見合った成長を示さないが、飼育期間が長くなってくると添加量に見合った成長を示すようになるのかも知れない。あるいは、1%添加区と2%添加区の成長差はそれ程大きくなかったもので、1%の添加量で成長は略平衡に達するのかも知れない。この点はさらに長期間の飼育試験を行ったり、Tau添加量をさらに増やしたりして確認する必要がある。

飼料へのTau添加量と乾物飼料効率、タンパク質効率との関係を図2と図3に示す。両者ともTau添加量が1%までは強い正の相関を示したが、それ以上の添加量になると反って減少した。この結果は前述の様に長期間の飼育になると変わる可能性が有る。

魚の成長に最も大きな影響を及ぼしていたのは給与タンパク質量であった。図には示さないが、給与タンパク質量と増重量、乾物飼料効率、

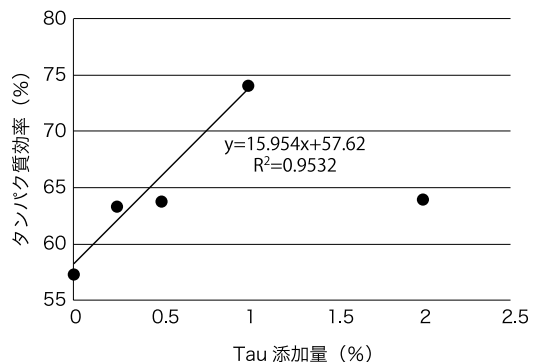


図3 Tau 添加量とタンパク質効率

表3 臓器体重比

試験区	A	B	C	D	E
11月14日					
体重 (g)	67.9	66.2	64.2	69.2	65.7
内臓体重比 (%)	19.8	18.2	17.2	18.9	19.2
肝臓体重比	6.14	5.02	5.24	5.92	4.95
DL 体重比	6.29	5.67	4.57	5.80	6.92
生殖腺体重比	2.82	3.49	3.61	3.02	2.78
消化管体重比 *	4.54	4.01	3.80	4.15	4.59
12月16日					
体重 (g)	76.1	73.5	81.8	76.0	84.5
内臓体重比 (%)	19.5	18.0	19.0	18.2	18.7
肝臓体重比	5.82	5.45	4.93	4.66	4.79
DL 体重比	6.63	5.61	7.35	7.34	6.54
生殖腺体重比	2.95	3.09	3.31	2.42	3.64
消化管体重比 *	4.09	3.83	3.45	3.76	3.71

* : (内臓 - 肝臓 - DL - 生殖腺) 体重比

タンパク質効率との関係を調べてみると、給与タンパク質量が約 320g までは何れの指標も直線的に増加し、それ以上の添加量になっても増重量と乾物飼料効率は略同じ値を示したが、タンパク質効率は明らかに減少した。この結果から判断すると、本条件下では飼料への Tau 添加量は 1% で良いのかも知れない。

2-2. 臓器体重比

各臓器の体重比を表3に示す。中間時、終了時共に消化管（内臓 - 肝臓 - DL - 生殖腺）体重比は図4に示す様に Tau0.5% 添加区が最も低い値を示し、添加量がそれ以下でも以上でも高くなる傾向が認められた。腹腔内脂肪蓄積組織（DL）体重比

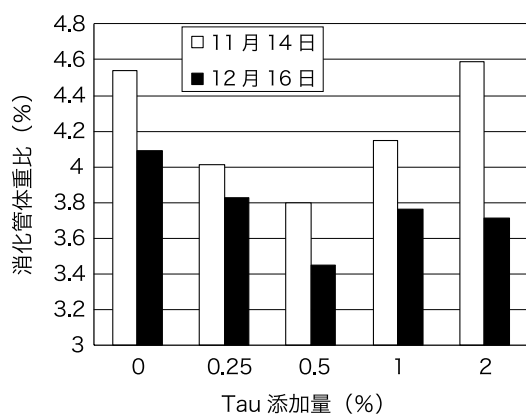


図4 Tau 添加量と消化管体重比

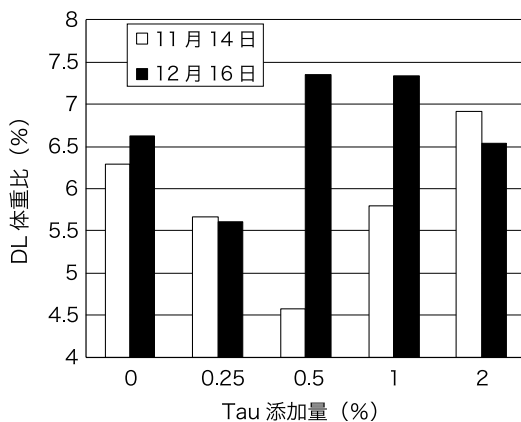


図5 Tau 添加量とDL 体重比

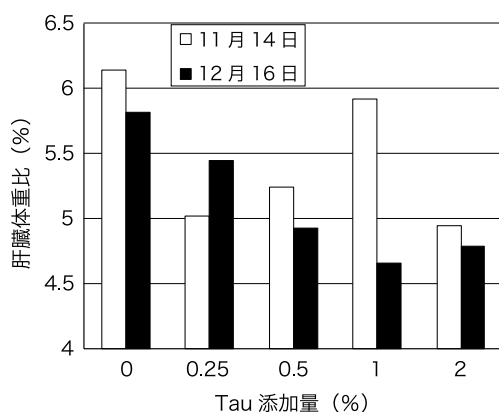


図6 Tau 添加量と肝臓体重比

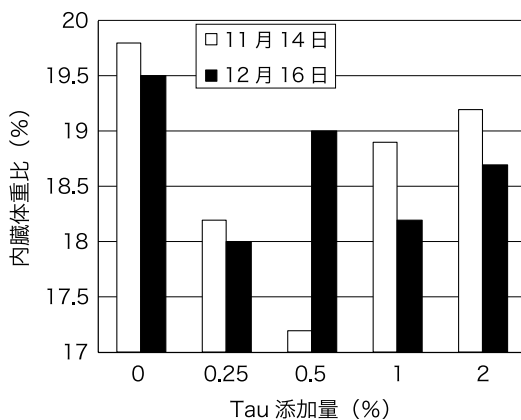


図7 Tau 添加量と内臓体重比

は中間時には消化管体重比と同様の動きを示したが、終了時には違っていた（図5）。肝臓体重比（図6）は中間時、終了時共に Tau 添加区は無添加区より小さかったが、終了時には Tau 添加量が1%まで添加量に従って小さくなる傾向が認められた。内臓体重比は消化管、DL、

肝臓および生殖腺体重比を総合した形になっており、図7に示す様に Tau 添加量が0.5%で最も小さい値を示した。終了時の0.5%区の値が高かったのはDLの影響と思われる。

肝臓体重比やDL体重比は魚の大きさや生殖腺の大きさと相関する場合があることが分かっ

ているので、各臓器の体重比と供試魚の体重、生殖腺の大きさとの関係を調べてみたが、何れにも強い相関は認められなかった。

以上の結果から、飼料への Tau 添加によって各臓器が小さくなり、0.5%添加で最も内臓が小さくなることが分かった。

2-3. 背肉の分析値

表4に分析結果を示す。Tau の添加量と背肉の水分含量の関係を示したのが図8で、中間時、終了時共に Tau の添加によって水分が高くなり、

0.5%添加で最も高い水分含量を示した。水分(x%)と脂質(y%)の間には $y = -0.9644x + 76.06$, $R^2 = 0.9307$, 脂質(x%乾物)とタンパク質(y%乾物)の間には $y = -1.0668x + 95.898$, $R^2 = 0.944$ の強い負の相関が認められた。これは背肉成分の変動の主因をなすのは脂質で、脂質量の変化に連動して水分、タンパク質、灰分が動いていることを示す。

以上の結果から、飼料への Tau の添加によって背肉の脂質が減少すること、Tau の0.5%添加で最も減少が著しいこと、添加量がそれ以下でも以上でも減少量は反って少なくなること等が分かった。

2-4. 肝臓の分析値

表5に分析結果を示す。Tau の添加量と肝臓水分含量の関係を示したのが図9で、Tau の添加によって無添加区より水分が高くなることと、Tau 添加量1%で最も高い値を示すことが分かる。水分(x%)と脂質(y%)の間には $y = -1.2912x + 88.7$, $R^2 = 0.8464$ の負の相関があったが、

表4 背肉の分析値

試験区	A	B	C	D	E
11月14日					
水分 (%)	75.6	76.3	77.2	76.6	75.8
タンパク質	19.9	20.2	20.0	20.1	19.7
脂質	3.19	2.35	1.90	2.10	3.04
タンパク質(%乾物)	81.7	85.2	88.0	86.2	81.3
脂質	13.1	9.91	8.35	8.99	12.6
12月16日					
水分 (%)	75.0	75.7	76.3	75.9	75.5
タンパク質	19.9	20.1	20.2	20.3	20.1
脂質	3.97	2.97	2.36	2.64	3.25
タンパク質(%乾物)	79.7	82.7	85.1	84.1	82.1
脂質	15.9	12.2	9.94	10.9	13.3

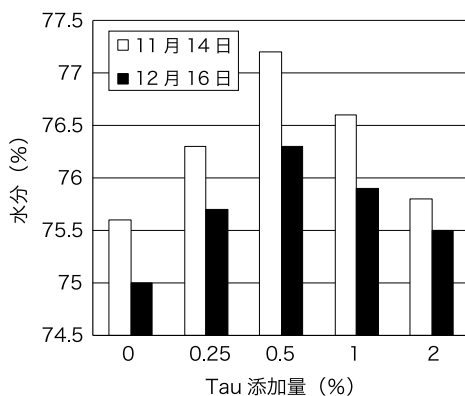


図8 Tau 添加量と背肉の水分含量

表5 肝臓の分析値

試験区	A	B	C	D	E
11月14日					
水分 (%)	65.7	66.2	66.4	66.7	65.9
タンパク質	6.51	7.74	6.15	6.12	6.39
脂質	3.33	4.07	3.16	2.06	3.48
タンパク質(%乾物)	19.0	22.9	18.3	18.4	18.7
脂質	9.72	12.0	9.40	6.19	10.2
12月16日					
水分 (%)	64.5	65.1	64.8	66.2	65.3
タンパク質	6.19	6.63	7.47	7.70	7.78
脂質	5.63	4.63	4.78	3.30	4.47
タンパク質(%乾物)	17.4	19.0	21.2	22.8	22.4
脂質	15.8	13.3	13.6	9.77	12.9

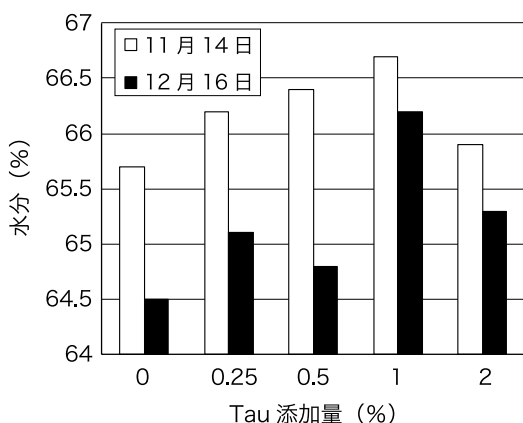


図9 Tau 添加量と肝臓の水分含量

脂質とタンパク質の間に強い相関は認められなかった。一般に肝臓にはグリコーゲンが豊富に含まれている。本試験ではグリコーゲン量を測定していないので断言は出来ないが、背肉と違って脂質とタンパク質の間に相関が認められなかったのはグリコーゲンの影響が有ったのではないかと考える。

以上の結果から、背肉程明確ではないものの、飼料への Tau 添加によって肝臓の脂質が減少することと、Tau の 1% 添加で減少が最も著しいことが分かった。

2-5. 血漿成分

分析結果を表 6 に示す。中間時，終了時共に飼料への Tau 添加量と血漿の総タンパク質 (T-Pro)，グルコース (Glu)，トリグリセライド (TG)，総コレステロール (T-Chol) 含量お

表 6 血漿成分の分析値

試験区	A	B	C	D	E
11月14日					
T-Pro (g/dL)	4.14	4.49	4.32	3.88	4.14
Glu (mg/dL)	50	43	46	48	54
TG(mg/dL)	278	273	316	246	256
T-Chol (mg/dL)	474	638	475	426	409
ALP(K-A.U)	6.7	7.8	6.4	8.5	6.7
12月16日					
T-Pro (g/dL)	3.83	4.00	4.41	3.83	4.62
Glu (mg/dL)	47	48	50	70	82
TG(mg/dL)	179	165	219	126	340
T-Chol (mg/dL)	433	554	467	388	424
ALP(K-A.U)	6.4	5.7	4.3	3.6	4.2

よびアルカリ性フォスファターゼ (ALP) 活性との間に明確な相関は認められなかった。

終了時の Glu 含量は Tau 添加量が多い区ほど高くなっていたが，これは採血までの操作と時間の問題であると判断している。採血前にまず A → E 区の順に体重測定した。その後各区から 5 尾ずつサンプリングし，同じ順で採血した。従って体重測定してから採血するまでの時間が区を追うに従って長くなっていた。魚を触って興奮させたり，空中露出したりすると，その後経時的に血糖が高くなることは良く知られている。これが今回の結果に反映されているのであろう。なお，中間時には採血前に体重測定等の処理は行わず，採血後に全区の尾数と体重測定を行った。

3. 要約

・飼料への Tau 添加量が 1% までは添加量に従って魚の成長が良くなり，飼料効率とタンパク質効率も高くなった。添加量がそれ以上になると成長と飼料効率は横這いかやや低くなった。タンパク質効率は明らかに低くなった。

・魚の成長に最も大きな影響を及ぼすのは給与タンパク質量だったので，給与タンパク質量と増重量，乾物飼料効率，タンパク質効率との関係を調べたところ，給与タンパク質量が約 320g までは給与量が多くなるに従って何れも高くなり，それ以上の量になると増重量と乾物飼料効率は略横這い，タンパク質効率は明らかに低い値を示した。

・Tau 添加量 0.5% 区が内臓，DL，消化管体重比が最も小さく，肝臓体重比は 1% 添加区が最も小さかった。添加量がそれ以下でも以上でも体重比は大きくなった。

・各臓器の体重比，背肉と肝臓の分析値等から，飼料への Tau 添加によって魚体に蓄積される脂質の量が減少することは明らかである。添加量が 0.5% で減少は最大になる。

・Tau の添加によって内臓が小さくなっ

て魚体に蓄積される脂質の量が減ることは、可食部が多くなり、肉質が良くなることに繋がるので、好ましいことである。

・以上の結果から、飼料への Tau の添加は魚の飼育成績を改善し、可食部の割合を増やし、魚体への過剰な脂質の蓄積を抑制して肉質を改善するので有効であると判断する。Tau の至適添加量は 0.5~1% であると思われるが、長期飼育の場合にはさらなる検討が必要である。

・和金は Tau 無添加飼料でも魚粉由来の Tau のみで何事も無く生育したので、Tau が必須成分であるとはいえない。しかしながら、飼料に Tau を添加すると色々な点が改善されたので、和金にとって Tau は機能性物質の一種であることは間違いないであろう。

マダイ

Takeuchi ら⁴⁾は海産魚の仔稚魚にとって Tau が必須成分であること、孵化仔魚の最初の餌料であるワムシに Tau は殆ど含まれていないこと、ワムシに Tau を強化するとマダイ⁵⁾やヒラメ⁶⁾は生残率と成長が改善されること等を示した。この結果を受けて高橋ら⁷⁾はワムシに Tau を強化する方法として、ワムシ培養水槽に Tau を溶解して取り込ませる直接強化法を開発し、種苗生産現場で利用されるに至っている。しかしながらワムシは水中に懸濁している固形物を選択的に食べる食性なので、水に溶解した Tau は固形物を食べる時に同時に取り込まれる水に含まれる分のみが利用されているのではないかと推測出来、取り込み効率が良くないのではないかと考えた。ワムシが食べられる大きさで、Tau を含む固形状の餌を作ればワムシによる Tau の取り込み効率が良くなる可能性が有る。

ワムシが食べる餌のサイズはナンノクロロプシス、クロレラ、パン酵母程度の大きさで良いことが知られている。よって、まずパン酵母に Tau を取り込ませる方法を検討した。その結果、酵母を増殖目的の栄養培地ではなく、任意の Tau 濃度の処理液中で環境条件を調整して非増

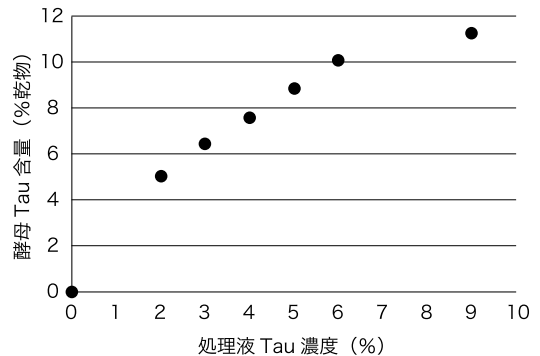


図10 処理液の Tau 濃度と酵母の Tau 含量

殖的に培養することによって菌体中に効率的に Tau が取り込まれることを明らかにし、Tau を菌体中に取り込んだパン酵母（以下 TY と略記）の製造法を確立した⁸⁾。処理液中の Tau 濃度と酵母菌体中の Tau 濃度との関係を図10に示す。

この TY をワムシの Tau 源としてマダイの種苗生産を行い、Tau 並びに TY の有効性を調べた。

種苗生産は近畿大学水産研究所で2回行い、試験-1では Tau 含量 11.3% 乾物の TY、試験-2では Tau 含量 5.4% 乾物の TY を用いた。

1. 試験-1

ワムシの培養法が異なる3試験区（R区、TY区、R+Tau区）を設定した。クロレラとワムシ用パン酵母餌料^{9,10)}（以下Rと略記）を等量ずつ与えて種ワムシを一定期間培養した。R区はこの種ワムシをクロレラとRを等量ずつ与えてさらに2日間培養した後、クロレラとTauを含まない必須脂肪酸（n3系高度不飽和脂肪酸）強化剤でさらに19時間培養したワムシを用いた区。TY区はRの代わりにTau含量11.3%乾物のTYを、R+Tau区はTYの代わりに合成Tauを用いた区である。ワムシの培養は200L容パンライト水槽で行い、各区3個ずつ使用した。培養水温は26~27℃、合成Tauの添加量は286mg/L培養水であった。

これらの3種類のワムシのみで受精卵から孵化したマダイ仔魚を日齢20日まで飼育した。飼育には各区200L容パンライト水槽2個を用い、各水槽には4000尾の仔魚を収容した。水

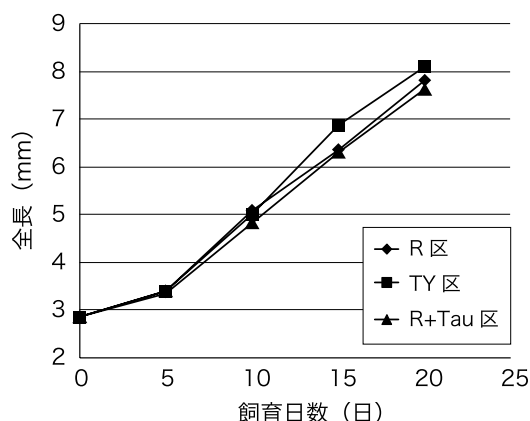


図 11 マダイ仔魚の成長 (試験-1)

表 7 飼育試験と活力試験の生残率

	R区	TY区	R+Tau区
A: 飼育試験生残率 (%)	59.4	58.5	40.8
B: 活力試験生残率 (%)	51.7	73.3	38.3
A × B (%)	30.7	42.9	15.6

温は 20℃に調整し、微通気、微量通水で飼育した。

飼育期間中 5 日毎に各区から 20 尾 (10 尾 / 水槽) ずつサンプリングして万能投影機下で全長を測定し、成長状態を調べた。飼育試験終了時には活力試験を行った。各区 120 尾 (各水槽 20 尾 × 3 回) の魚をネットを用いて 120 秒間空中露出し、その後清水を張った水槽に戻して 24 時間後の生残率を調べた。この方法で調べた生残率は魚の活力と良く相関することが経験的に知られている。また、ワムシと飼育試験終了時の魚体の水分と Tau 含量も調べた。水分は定法で、Tau は試料を 20% 塩酸で 95℃ 48 時間加水分解した後 HPLC で測定した。

魚の成長曲線を図 11 に、飼育試験と活力試験の生残率を表 7 に示す。それぞれの値は各区 2 水槽の平均値である。成長は TY 区が 10 日目以降他の 2 区より優れていた。R+Tau 区は R 区と差が無かった。飼育試験の生残率は R 区と TY 区で差が無く、R+Tau 区は劣った。活力試験の生残率は TY 区が最も高く、次いで R 区で、R+Tau 区が最も劣った。活力試験で死亡する程度の生命力しかない魚は養殖や放流用種

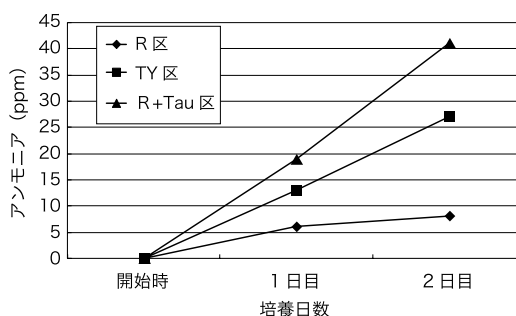


図 12 ワムシ培養水槽中のアンモニア濃度

苗として出荷される大きさになる前に死亡する可能性が高いと思われるので、飼育試験の生残率(A)と活力試験の生残率(B)を乗じた値(A×B)で比較すると、生残率は TY 区 > R 区 >> R+Tau 区となり、やはり TY 使用区が最も優れていた。

ワムシの Tau 取り込み量を調べたところ、TY 区、R+Tau 区共 24 時間後に最大濃度に達し、48 時間後までは略同じ濃度 (TY 区 : 約 2500mg % 乾物, R+Tau 区 : 約 1000mg % 乾物) を維持していたが、その後の必須脂肪酸強化時に両区共可也減少する (TY 区 : 800mg % 乾物, R+Tau 区 : 400mg % 乾物) ことが分かった。

ワムシ培養水槽のアンモニア濃度を調べた一例を図 12 に示す。R+Tau 区は最も培養水槽が汚れ、アンモニア濃度も高くなっていった。水中のアンモニア濃度が高くなるとワムシの活力は低くなり、その後に与えられる栄養強化剤の取り込みが悪くなるので、魚が必須脂肪酸不足を起こす可能性がある。また、活力が低いワムシは水中での動きが悪く、水槽底に沈下し易いので魚による摂取量が少なくなり、餌料不足になる可能性も有る。

ワムシと魚体の Tau 含量を調べた結果を図 13 に示す。ワムシ、魚体共に Tau 含量は TY 区が著しく高く、R+Tau 区のワムシの Tau 含量は Tau 無添加の R 区より多かったにも拘らず、魚体の Tau 含量は R 区より少なかった。この結果は R+Tau 区はワムシを十分量食べていなかったことを示し、ワムシ培養水の水質悪化によってワムシの活力が悪かったことが原因していたものと思われる。今回はワムシ、魚体共に

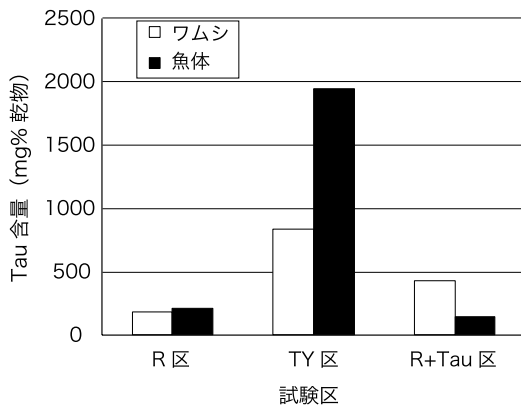


図 13 ワムシと魚体の Tau 含量

脂肪酸組成を調べていないので、必須脂肪酸不足の可能性については不明である。

以上の結果から、培養水に溶解した Tau よりもパン酵母に含まれる Tau の方をワムシは効率良く取り込むこと、Tau の取り込みは比較的短時間でピークに達するが、その後の栄養強化時に可也減少すること、合成 Tau のワムシ培養水への添加は水質悪化を引き起こし易く、ワムシの活力を低くすること、ワムシの活力低下がマダイの摂餌量低下を招くので、飼育成績や活力の低下を招くこと、活力が高く Tau 含量が多いワムシはマダイの生残、成長、活力、Tau 含量を高めること等が分かった。

2. 試験-2

試験-1 で TY 区は魚の飼育成績は良かったものの、ワムシ培養水槽中のアンモニア濃度は R 区より明らかに高く、これは TY の Tau 含量が高すぎるのが原因ではないかと考えた。また、R+Tau 区の合成 Tau の使用法も不適切であったと思われる。よって、試験-2 では Tau 含量が 5.4% 乾物と低い TY を用い、合成 Tau の使用法も変更し、再度マダイの種苗生産を試みた。

試験区はワムシの培養法が異なる 3 区 (R 区、TY 区、C+Tau 区) を設定した。R 区はクロレラと R を等量ずつで種ワムシを培養後、試験-1 と同じ方法で必須脂肪酸の強化を行った。TY 区はクロレラと TY を等量ずつで種ワムシを培養後、栄養強化した。TY の Tau 含量は 5.4%

乾物である。C+Tau 区はクロレラのみで種ワムシを培養した後栄養強化を行った。栄養強化時に合成タウリンを 800mg/L 培養水で添加し、必須脂肪酸と同時に Tau の強化も行った。

マダイの飼育法とワムシ培養水槽の水質調査法は試験-1 と同じであった。

試験期間を通じてワムシ培養水中の溶存酸素量、pH、アンモニア濃度に区間差は無く、何れの区も良好な水質を維持していた。よって、本試験ではワムシ培養水槽の水質の影響、ワムシの活力の問題は無かったと考える。

栄養強化後のワムシの Tau 含量は R 区で検出限界以下、TY 区で約 200mg % 乾物、C+Tau 区で約 2000mg % 乾物と C+Tau 区が著しく高く、合成 Tau の投与法と投与量を変更した効果が明確であった。また、TY の Tau 含量を低くした影響も明らかであった。

魚の成長曲線を図 14 に、飼育試験と活力試験の生残率を表 8 に示す。成長は 3 区間で大きな違いは認められなかったが、飼育試験の生残率 (A) は R 区 ≥ TY 区 > C+Tau 区の順に高く、活力試験の生残率 (B) は逆に C+Tau 区 > TY 区

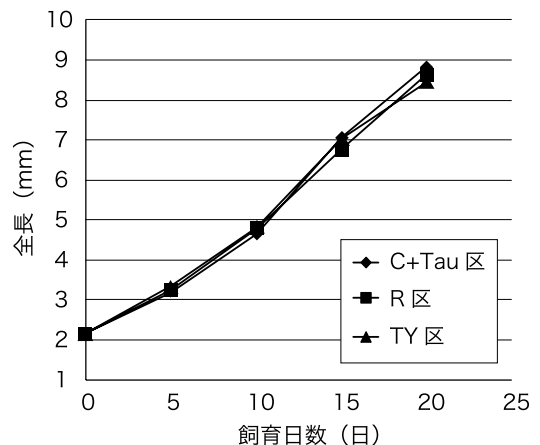


図 14 マダイ仔魚の成長 (試験-2)

表 8 飼育試験と活力試験の生残率

	R 区	TY 区	C+Tau 区
A: 飼育試験生残率 (%)	85.9	83.5	77.8
B: 活力試験生残率 (%)	68.4	78.4	84.2
A × B (%)	58.7	64.2	63.9

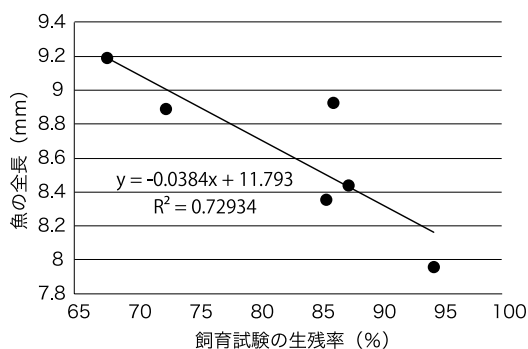


図 15 飼育試験の生残率と魚の全長

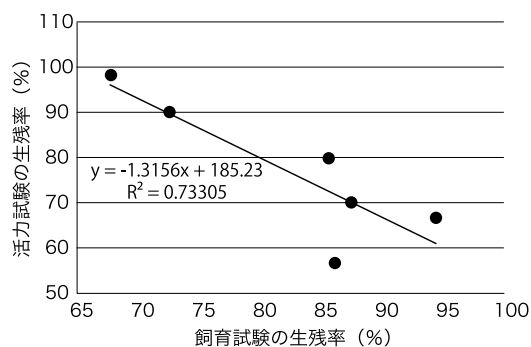


図 16 飼育試験の生残率と活力試験の生残率

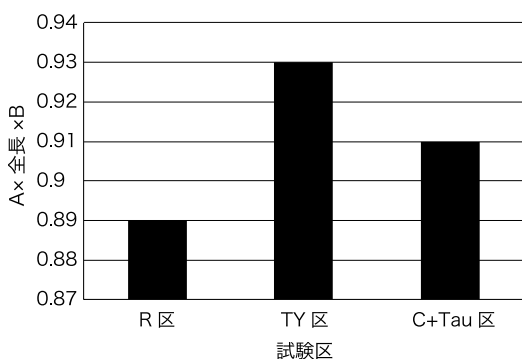


図 17 飼育試験生残率(A)×全長×活力試験生残率(B)

» R 区の順に高かった。両者を乗じた A×B 値は TY 区 = C+Tau 区 > R 区の順であった。

飼育試験終了時の生残率と魚の全長との関係を図 15 に、活力試験の生残率との関係を図 16 に示す。飼育試験の生残率が高い程魚は小さく、活力も低かった。ワムシの投与数は各水槽共同じなので、生残率が高く、魚一尾当たり摂取可能なワムシ数が少ない区ほど成長が悪く、活力も低かったことになる。これは摂取したワムシの質の問題も有ろうが、摂取したワムシの数も魚の成長に可也影響を与えていることになり、単に魚の成長のみで飼料の質の良し悪しを判断するのは危険であることを示す。

魚の成長、飼育試験の生残率、活力試験の生残率がそれぞれ最も優れている区の値を 1 とし、他区の値を比率で示し、3 者を乗じた結果を図 17 に示す。TY 区が最も優れ、R 区が最も劣り、C+Tau 区はその中間であった。

この様に Tau 含量 5.4% 乾物と比較的低い

TY とクロレラを等量ずつ用いてワムシを種培養することによって水質の悪化も起こさず、Tau 濃度 800mg/L 培養水という非常に高濃度の Tau 溶液で強化したワムシと同等かそれ以上の結果が得られることが分かった。これはワムシには Tau が一定量以上含まれていれば良く、必要以上に Tau 含量を高くする必要はないことをも示している。

以上の結果から、Tau 含量が低い TY を用いたり、合成 Tau の添加法を工夫したりすればワムシ培養水の水質悪化は避けられ、ワムシの活力にも悪影響を及ぼさないこと、クロレラと Tau 含量 5.4% 乾物の TY を等量ずつ用いてワムシを種培養すれば改めて Tau の強化処理を行う必要が無く、Tau 含量 800mg/L 培養水という非常に高い濃度の Tau 液で強化したワムシと同等かそれ以上の結果が得られること、Tau を強化したワムシを用いれば活力が高い魚が生産出来ること、ワムシには一定量以上の Tau が含まれていれば良く、必要以上に Tau 含量を高くする必要は無いこと等が分かった。

3. 要約

- ・ワムシは培養水に溶解した Tau よりもパン酵母に含まれる Tau の方を効率良く取り込む。

- ・Tau 含量が低い TY を用いたり、合成 Tau の使用法を工夫したりすれば、ワムシ培養水の水質悪化は避けられ、ワムシの活力に悪影響を及ぼさない。

- ・クロレラと Tau 含量 5.4% 乾物の TY を等

量ずつ用いてワムシの種培養を行えば、改めて Tau 強化を行わなくても Tau 濃度 800mg/L 培養水という非常に高い濃度の Tau 溶液で強化したワムシを用いた場合と略同じかそれ以上のマダイ種苗生産結果が得られた。

・ワムシへの Tau 強化によってマダイは活力が高まり、養殖や放流用種苗として好ましい魚になる可能性が高い。

・魚の成長は摂取可能なワムシの数によって大きく影響されるので、Tau の添加効果を魚の成長のみで判断するのは危険である。成長、生残率、活力等を併せて総合的に判断すべきである。

考察

Tau 添加の飼餌料で和金やマダイを飼育すると成長、生残率、飼料効率、タンパク質効率、魚の活力等が改善され、内臓体重比や魚体の脂質含量が減少する等の好ましい効果が認められたので、Tau が和金やマダイにとって機能性物質の一つであることは間違いないであろう。

しかしながら、和金とマダイの飼育試験を通じて感じたのは、Tau を魚の必須成分と規定して良いのであろうかということである。必須成

分、例えば必須アミノ酸であれ必須脂肪酸であれ、物によって欠乏症が表れるまでに要する時間に違いは有るものの、激しい欠乏症を呈して成長は停滞し、斃死に至るのが一般的ではないだろうか。本試験では和金にしるマダイにしる明確な欠乏症は示さず、魚の活力は劣ったものの成長も生残率も著しく低いといえるほどの違いはなかった。

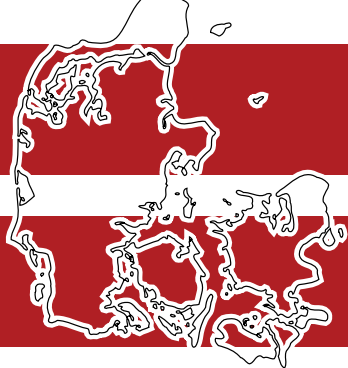
また、酒本がマダイの必須アミノ酸を決める時の試験では、Tau を全く含まない完全な精製飼料のみで 1 才魚を飼育したが、必須アミノ酸無添加区以外は実用飼料よりも成長は可也劣ったものの何ら異常無く飼育出来た覚えが有る。

本試験で供試した和金は 3 才魚だったので既に魚体に相当量の Tau を有していたであろうし、飼料原料の魚粉に由来する Tau も利用出来たはずである。マダイの場合には Tau 未強化のワムシには Tau は殆ど含まれていなかったが、受精卵には約 1% 乾物と相当高濃度の Tau が含まれていたもので、孵化仔魚はこの Tau を利用していたことは十分考えられる。

必須という意味の定義の仕方にもよるのであろうが、Tau が魚に取って必須成分であるか否かの判断は、Tau を全く含まない精製飼料を用いて長期間の飼育試験が必要なのではないだろうか。

文 献

1. 後藤孝信, 望月明彦, 蓮實文彦: 魚類肝臓中のタウリン生合成に関与した酵素の活性と分布. 水産増殖, **50**(4): 443-449, 2002.
2. 後藤孝信: 魚類のタウリン生合成の多様性. 化学と生物, **40**(10): 635-637, 2002.
3. S.Takagi, H.Murata, T.Goto, T.Ichiki, M.Endo, H.Hatake, T.Yoshida, T.Sakai, H.Yamashita and M.Urawa: Efficacy of taurine supplementation for preventing green liver syndrome and improving growth performance in yearling red sea bream *Pagrus major* fed low fishmeal diet. *Fisheries Science*, **72**(6): 1191-1199, 2006.
4. T.Takeuchi, G-S. Park, T.Seikai and M.Yokoyama: Taurine content in Japanese flounder and red sea bream during the period of seed production. *Aquaculture Research*, **32**(1): 244-248, 2001.
5. 陳 昭能, 竹内俊郎, 高橋隆行, 反田 努, 小磯雅彦, 桑田 博: マダイ仔魚の成長および飢餓耐性に及ぼすタウリン強化ワムシの効果. 日本水産学会誌, **70**(4): 542-547, 2004.
6. 陳 昭能, 竹内俊郎, 高橋隆行, 反田 努, 小磯雅彦, 桑田 博: ヒラメ仔魚の成長に及ぼすタウリン強化ワムシの効果. 日本水産学会誌, **71**(3): 342-347, 2005.
7. 高橋隆行, 天野高行, 竹内俊郎: 海産ワムシへのタウリン直接強化法の確立. 水産増殖, **53**(2): 121-126, 2005.
8. 増田佳史, 酒本秀一, 鈴木康生: タウリン高含有酵母及びその製造法. 特願 2005-181481
9. 酒本秀一, 藤田英之: 生物餌料培養用餌料. 特開 H11-69947, 登録番号 3456897
10. 安倍 謙, 吉村研治, 双田 崇, 酒本秀一, 吉松隆夫: 酵母クリームと濃縮淡水クロレラ併用給餌によるワムシの高密度大量培養. 水産増殖, **49**(4): 489-494, 2001.



デンマークのパン屋さんのケーキ

今回はデンマークのパン屋さんで買えるケーキ（お菓子）について、紹介したいと思います。

デンマーク人は、パンやケーキを家で焼く人も多く、一般家庭の多くはキッチンにオーブンを備えています。日本では、電子レンジと一体型になったオーブンが主流ですが、デンマークは電子レンジを持っていなくても、オーブンを持っているという家庭も少なくありません。パンやケーキを自宅のオーブンで焼くことは珍しくありませんが、デンマークの街のパン屋さんでも、手軽に、美味しい様々な種類のケーキを買うことができます。ちなみに、日本でケーキ（Cake）というと、通常はスポンジに生クリームやフルーツなどを飾ったものを思い浮かべますが、英語のCake（ケーキ）という言葉は、デンマーク語では、Kage（ケーえ、と発音）となり、Kageと言った場合、日本のそれよりもやや広い意味になるようで、スポンジでなくても、丸形でなくても、甘くて焼いてあるもので、おやつに食べる美味しいものを Kage という傾向があるようです。

さて、デンマークのパン屋さんのケーキの特徴ですが、まず、マジパンを使ったケーキが多くあります。マジパンは、アーモンドを細かくしたものの（粉状）と、砂糖、水を混ぜて作る粘土のような状態の食材で、ケーキの下地に使ったり、クッキー風に焼いたり、デコレーションにしたりと、その用途は様々です。そしてもう一つの特徴は、甘い、ことではないでしょうか。日本という、「甘さ控えめ」という概念はあまりないのか、砂糖、特にアイシングシュガーやジャムを使ったものが多く見られます。

では、デンマーク人が誰でも知っているケーキのいくつかを紹介しようと思います。まずは、Napoleonshat（ナポレオンの帽子）というケーキで、これはマジパンを使ったクッキーのようなもので、立体的に三角（帽子のように）に焼き上げ、チョコレートで三角のはしにコーティングしてあるものが主流です。手のひらよりも小さいお菓子ですが、マジパンが使われているため、お腹にもすっきりくるケーキです。

次に、Gåsebryst kage（ガチョウの胸ケーキ）と言われるケーキで、スポンジやタルト生地をベースに、生クリームを、フルーツやジャムなどと組み合わせてのせ、最後にマジパンを薄く伸ばしたもので山型に仕上げます。その形がガチョウの胸に似ていることから、この名前がついたと言われています。このケーキも、とても甘く、そして生クリームとマジパンがふんだんに使われているため、一つ食べるともう他のものが食べられるなくなるほどボリュームがあります。この Gåsebryst kage の材料と似た



ガチョウの胸のケーキ（生クリームがたっぷり）



一番上に陳列されているのが、ファスタラウンの菓子パン



茶色の芋のような形をした、じゃがいもケーキ

お菓子に、Kartoffelkage（じゃがいもケーキ）というものもあります。これも生クリームをたくさん使ったお菓子で、その形がじゃがいも（丸いままのじゃがいも）に土がかかったようなイメージなため、この名がついています。これも Gåsebryst kage と同様に、バターの生地、生クリームをたっぷりのせ、仕上げにマジパンを伸ばしたもののをのせます。仕上げに、ココアの粉をふりかけて、土に見せかける、という作りになっています。

最後に hindbærsnitte（ラズベリーのクッキー）といわれる、子供たちが大好きなパン屋で買えるお菓子を紹介したいと思います。これは、クッキーのような生地でラズベリージャムを挟み、アイシングシュガーをたっぷりのせて仕上げたものです。見かけは平たい四角いクッキーという感じですが、ジャムとアイシングシュガーがたっぷり使われているため、これもずっしりおいしいお菓子です。このお菓子は、先の3つのお菓子と違い、マジパンが使われていません。マジパンは、アーモンドが主要な材料なため、小さな子供にとっては、やや大人の味がするお菓子ですが、hindbærsnitte は、マジパンなしで、甘くて美味しいクッキーなので、誰もが愛するお菓子と言ってもいいでしょう。



ラズベリーのクッキー、アイシングシュガーがたっぷりかかって、ずっしり重いクッキー

余談ですが、2月にデンマークでは、Fastelavn（ファスタラウンと発音）というキリスト教

の宗教にちなんだ行事があります。Fastelavn は北欧の各国に共通する行事で、12月のクリスマスと、3月から4月にあるイースターの間にある宗教行事ですが、デンマークの今日では、宗教行事というよりは、子供のお楽しみ行事としての色合いが強く、学校や幼稚園、保育園などで、子供たちが仮装して、紙でできた樽を棒で叩いて壊し、樽の中に入っている飴やお菓子をもらう、というイベントとして祝うのが主流です。その Fastelavn 近くになると、パン屋さんの菓子パンコーナーに並ぶのが、Fastelavnsboller (ファスタラウンのブレッドロール) という菓子パンです。デニッシュの生地の中に、ジャムや生クリーム、カスタードクリームなどを挟み、アイシングシュガーを溶かしたものをたっぷり仕上げにかけてあるのが定番です。子供達がお楽しみにする行事にちなんで、パン屋さんもこの頃になると美味しい Fastelavnsboller を、色とりどり陳列しています。

デンマークのパン屋さんのケーキのキーワードは、マジパン、生クリーム、アイシングシュガー、ジャム、といったところでしょうか。街のあちこちに見かけるパン屋さんで、これらのデンマークのケーキを色々試して見るのも楽しいかもしれません。



世界の学食 (1) — 北京大学

School cafeteria in the world (1) - Peking University

郑燕 (ZHENG Yan)¹ 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)²

1 北京大学口腔医学院 种植科

Yan Zheng, Ph.D. candidate, Department of Oral Implantology, School and Hospital of Stomatology, Peking University

2 明海大学歯科医学総合研究所 (Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO))

はじめに

北京大学口腔医学院の学生さんとインストラクターの御一行が、日本・アジア青少年サイエンス交流事業（さくらサイエンスプラン）の支援を受け、朝日大学（11月20-23日）と明海大学（11月24-26日）に来校しました。これは日々発展を遂げている中国の活力の源泉を探る絶好の機会であると思い、私は、郑燕さんに、北京大学の学食についてお話を伺いました。

1. 北京大学のカフェテリア^{*1}

北京大学の中心的なキャンパスには、いろいろな場所に計10件のカフェテリアがあります（図1、表1）。学生寮も点在しておりますので便利です。最も近い食堂は、学生寮から500mほどしか離れておりません。それぞれのカフェテリアは、数10平方メートルから、数百平方メートルの大きさです。第1学生組合カフェテリアは、1964年に建設されました。以後、第5学生組合カフェテリア（1980）、燕南美食（1980）、农园（2014）、勺园（2015）が続いてオープンしました。农园は、キャンパス最大のカフェテリアです。温家宝首相そして李克強总理もここを訪問され、我々とランチを共にしたことは大変光栄でした。

Introduction

A group of PKU School of Stomatology (PKUSS) students and instructor visited Asahi University (November 20-23, 2017) and Meikai University (November 24-26, 2017), supported by SAKURA SCIENCE Exchange Program in Science (Japan-Asia Youth Exchange Program in Science). I thought this may be a good opportunity to find the source of China's vitality, which is developing day by day, and I asked Miss Yan Zheng about school cafeterias at PKU.

1. Cafeterias in Peking University

There are ten cafeterias in main campus of PKU (Figure 1, Table 1), which are located in different places, making students living in near-by dormitories more accessible. The nearest canteen is only 500 meters distant from one of the dormitories. Each cafeteria differs in size, from dozens to several hundred square meters. The No.1 student union cafeteria was constructed in 1964, followed by The No.5 student union cafeteria, Yan Nan Mei Shi (1980s), Nong Yuan (2014) and Shao Yuan (1F) (2015). Nong Yuan is the biggest cafeteria in the campus. What's important, Premier Wen Jiabao and Premier Li Keqiang have visited this place and have lunch with us.

^{*1} <http://www.pku.edu.cn/campuslife/hqfw/index.htm>



図1 北京大学のカフェテリア

表1 北京大学 (PKU) メインキャンパスのカフェテリアの営業時間

Cafeteria's name		Break fast	Lunch	Dinner	Payment		
					Campus Card	Meal Card	Cash
No.1 student union cafeteria	Main Restaurant	○	○	○	○	○	
	Temporary Canteen	○	○	○	○	○	
	Only stable food	△	△	△	○	○	
Yi Yuan	Main Restaurant	○	○	○	○	○	
	2F		○	○	○	○	
	Temporary Canteen	○	○	○	○	○	
No.5 student union cafeteria	Chinese fast food and Dumplings	○	○	○	○	○	
	Western fast food and Rice noodles	○	○	○	○	○	
	2F	○	○	○	○	○	
	Temporary Canteen		○	○	○	○	
	Flour-made Dishes	○	○	○	○	○	
Yan Nan Mei Shi	Main Restaurant	○	○	○	○	○	
	Basement Restaurant	○	○	○	○	○	
	Paradiso Coffee	○	○	○	○	○	○
Shao Yuan	1F	○	○	○	○	○	
	2F		○	○	○	○	
	3F		○	○	○	○	
Beautiful Time Café		○	○	○	○	○	○
Songlin Restaurant		○	○	○	○	○	
Nong Yuam	1F	○	○	○	○	○	
	2F	○	○	○	○	○	
	3F		○	○	○	○	
	Only staple food	○	△	○	○	○	
Chang Chun Yuan	1F	○	○	○	○	○	
	2F		○	○	○	○	
	3F		○	○	○	○	
Tong Yuan	Muslims' canteen	○	○	○	○	○	

△：土曜日、日曜日、祝日は休み

北京大学周辺に住むほとんどの人は、キャンパスカードまたは食事カードを持っていないければ、これらのカフェテリアを使用することはできません。しかし、いくつかのカフェテリアと追加のカフェテリアでは、お客様が商品や食料品を現金で買うことが認められています。中国には、言語、身体的特徴、食習慣、そして信仰している宗教の異なる 56 の少数民族があります。この点を考慮して少数民族の学生に対しては、特別なカフェテリアを用意しています。

2. 北京大学ヘルスサイエンス・センターのカフェテリア^{*2}

北京大学ヘルスサイエンスセンター (PUHSC) には、4 件のカフェテリアと 1 件のベーカリーがあります (表 2)。PUHSC は大きくありませんので、学内教室や寮からそれほど遠くありません。PUHSC の学生組合カフェテリアは、1958 年に建設されましたが、現在の建物は 2011 年に建設され、徳園は 2015 年にオープンしました。

Most of the people living around Peking University are not allowed to use those cafeterias, unless they have Campus Card or Meal Card. However, there are several cafeterias and additional cafeterias where customers are allowed to pay for goods and food by cash. China has 56 ethnic groups, having certain extents of differences in their language, physical characteristics, eating habits and religious belief. Taking into consideration of this point, PKU provides special cafeterias for the students of ethnic minorities.

2. Cafeterias in Peking University Health Science Center (PUHSC)

There are four cafeterias and one bakery in Peking University Health Science Center (PUHSC) living quarters (Table 2). Since our PUHSC is relatively smaller, these cafeterias are not so far away from our classroom or dormitories. The Student union cafeteria in PUHSC was constructed as far back as 1958. The current building was constructed in 2011. Besides, De Yuan opened up in 2015.

表 2 北京大学ヘルスサイエンス・センターのカフェテリアの営業時間

Cafeteria's name		Break fast	Lunch	Dinner	Payment		
					Campus Card	Meal Card	Cash
Student union cafeteria	1F	○	○	○	○	○	
	2F	○	○	○	○	○	
	3F		○	○	○	○	○
Muslims' canteen		○	○	○	○	○	
De Yuan		○	○	○	○	○	○
Feng Wei Can Ting			○	○	○	○	○
Bakery			○	○	○	○	

3. キャンパス内の他のカフェテリア

ファミリーマートなど、私たちのキャンパスにはコンビニやカフェがいくつかあります。1 日 24 時間営業しています。時間の観点からみると、特に最終試験の時期には、24 時間のショップが学生には最も便利です。しかし、彼らは様々な新鮮な食べ物を買うことはできませ

3. Additional cafeterias in campus

There are several convenience stores and cafes in our campus, such as Family Mart. It stays open twenty-four hours a day. From the point of view of the time, especially in the final exams week, twenty-four hours' shop is most convenient for the students. However, various fresh foods are not provided

^{*2} <http://byhq.bjmu.edu.cn/zjzg/zwc/ysfwzx/index.htm>

ん。キャンパスの近くにはさらに多くのカフェテリアがあります。そうです！近くの商業地区には、常に小さなレストラン、スナックショップ、路上での売店がたくさん並んでいて、昼休みの休憩、調和の取れた環境、もっと多くの食べ物の選択を提供しています。さらに、テイクアウトは多くの大都市で人気があります。アプリを使用すると、いつでもほとんどすべてを買うことができます。

4. カフェテリアで人気のある食べ物

実際、図2の写真のほとんどは、口腔医学院のカフェテリアからのものではありません。私たちが研修している病院は、他のオフィスビルの近くの西三环路にある通常の都市部作業ユニットのように見えます。そこで、私は、より典型的であり代表的なPKU、そしてPUHSCのカフェテリアに行ってみました。我々はそこで毎日生活をしていますので。

10月20日2016の北京ニュースネットワーク^{*3}には、PKUに関する興味深いニュースが紹介されています。正午には燕南美食カフェテリアはいつも学生さんで混雑しており、座れずに立ったまま昼食を取っています。しかし、私はそれがPKUの文化の一種だと思います。それは時間を追いかけていることを意味しております。実際にはチャンスがありますが、数分を無駄にしたくありません。

実際、中国は多くの種類と味で構成された幅広い食文化を持っています。中国には、8つの主要な地域料理があるため^{*4}、どんな種類の食べ物が最も人気があるかを言うのは難しいです。中国の北部では、炊飯にした小麦の食べ物は米よりも人気があります。中国の南部にいる間は、それは違うはずです。学校のカフェテリアでは、ほとんどの人が西洋料理を食べるよりも家庭料理を食べる方が好きです。時間がない時は、ハンバーガーとピザなどファーストフー

there. Additional cafeterias are available near the campus. Right! Always, there should be a lot of little restaurants, snack shops and street vendors in a nearby commercial district. They can provide us full lunch-hour breaks, harmonious surroundings and more choices of foods. In addition, takeout is popular in lots of big cities. You can buy almost everything at any time by using APP.

4. Most popular foods in cafeteria

Actually, the most of these photos (Figure 2) are not from cafeteria in school of stomatology. Our hospital (where I take academic courses) looks like the normal urban work units located at West Sanhuan Road right near the other office buildings. Therefore, I will examine more typical and representative cafeterias in PKU and PUHSC, where I am living every day.

Beijing News on 27 October 2016 airs interesting news about PKU. Yan Nan Mei Shi cafeteria was crowded at noon. Many students eat lunch, standing without having a seat. However, I think it is a kind of culture of PKU, meaning we are chasing time. We have a chance actually, but we just do not want to waste several minutes.

In fact, China has a wide range of food culture consist of many types and flavors. Since there are eight principal regional cuisines of China, it is difficult to say what kind of food is the most popular one. In the north of China, cooked wheaten food is much popular than rice. While in the south of China, it must be different. In cafeterias of school, most people prefer to eat home cooking rather than westernized dish. When we don't have much time, hamburger and pizza, a kind of fast food, are

^{*3} http://epaper.bjnews.com.cn/html/2016-10/27/content_657146.htm?div=-1

^{*4} <http://www.theworldofchinese.com/2013/05/eight-regional-cuisines-of-china/>



Malatang



Chicken in three cups



Burrito and sweet soybean milk



Beef noodles



Thai hot-pot



Taiwan rice roll



Buns and pumpkin porridge



Hainan Chicken rice



Buns, homely dishes, steamed egg with shrimp



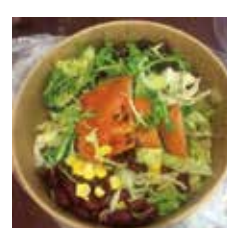
Egg yolk mooncake



Sour soup fish



Tuna fish salad



Chicken salad



Fried bean



Steamed products



Cherry and steamed sweet potato



Salt soybean milk



Red bean porridge



図2 PKU カフェテリアの人気メニュー



図3 麻辣烫あるいは麻辣火鍋

ドを食べます。

私は中国の点心が大好きで、空き時間を使って集め、味わい、そして比較しております。以前、充填方法と製造方法の異なる 30 種類以上の月餅を集めたこともあります。私の世代は、健康的な生活に基づいて選択をしたいと考えています。私は、中国の北西に位置する天水市の出身ですが、健康のためと、美味しいので広東料理が好きです。例えば、お碗にもったお粥の一種の Chao Shan Sha Guo Zhou などです。

この食べ物の中国名は、麻辣烫です (図3)。麻辣火鍋としても知られています。麻辣烫は、焼き芋と同様、中国東北部では、防寒に対して効果的です。麻辣烫は、中国周辺の多くの場所、

our choice.

I love the Chinese Dim Sum. Using my spare-time, I collect, taste and compare them. For example, I once collected over 30 kinds of mooncakes made by different filling and manufacture methods. My generation would like to make choices, based on the merit for healthy life. Although I was born in the northwestern Chinese city of Tianshui, I like the Cantonese food because of health-cooking practices and good taste. For example, Chao Shan Sha Guo Zhou, which is a kind of porridge served in arenaceous bowl is my favorite.

Chinese name of this food (**Figure 3**) is malatang, also known as spicy hot pot. Like the roasted sweet potato, malatang is also an effective way to fight the cold of Northeast China. In many other places

特に北京では、通りの売店やレストランで、よく見かけます。麻辣燙と火鍋の成分はまったく同じですが、最も大きな違いはシンプルで速い点です。スパイシーな食べ物が苦手な方には、スパイシーなホットブロスよりも、透明なスープとゴマペーストも人気があります。私たちは、好きな野菜や肉類、そして、インスタント麺、ラーメン、手作りの麺、うどん、エビの餃子、おにぎりなど、選ぶことができます。

今後の方向性

中国の学生食堂では、珍しい料理がたくさん並んでいた。広い国土と、豊富な人材と資源をもつ中国は、伝統的なものを融合させることにより、さらに多彩な食文化を形成してゆくと思われる。日本は、日々成長を遂げている中国と良好な関係を築いてゆくことが、日本の発展にも必要である。

around China, particularly in Beijing, it is more often found at malatang street stands or small malatang restaurants. Ingredients of malatang and hot pot are exactly the same, but they are quite different with each other in their simplicity and fastness. Among people who cannot eat spicy foods, the clear soup and sesame paste rather than spicy hot broth are popular. We can choose our favorite vegetables and meat and staples including instant noodles, ramen noodles, handmade noodles, udon noodles, shrimp dumplings, rice dough balls and so on.

Future direction

A lot of rare dishes were lined up in the Chinese cafeterias. China with broad land rich in human and natural resources will surely create a more diverse food culture by incorporating the traditional cultures. To fulfil the future development of Japan, it is necessary to establish good relations with China, which is growing day by day.

グルテンフリーベーカリー食品, その仕込みと加工 (2)

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)¹ 木村 万里子 (KIMURA Mariko)¹

¹ 神戸女子大学

Key Words：グルテンフリー ベーカリー パン 小麦タンパク質

要約

本論文「グルテンフリーベーカリー食品」は、米国の穀物科学者、Jeff Casper と Bill Atwell によって書かれた本（“Gluten-Free Baked Products” 2014 by AACC International, Inc. 3340 Pilot Knob Road St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.）の一部（“Gluten-Free Bakery Product Formulation and Processing”）を翻訳し紹介するものである。ここでは「グルテンフリーベーカリー食品、その仕込みと加工 (2)」として、グルテンフリーパン等について述べる。

グルテンフリーパン

成分と仕込み

小麦粉は、機能上すぐれた製パン適性を与えるユニークなものである。小麦と近隣他穀物とを比べても、小麦粉は遥かに優れている。図 4.2 に示すように、小麦構成成分の優れていることがわかる。これはある研究からのデータであるが、一個の小麦粉白パンを標準方法で製造した物である。さらに同時に他の穀物の粉でおきかえて焼いたものもある。全て各パンが最大容積を与えるような仕込みで製パンを行なったが、全ての場合、容積は小麦粉に比べてはるかに小さい。これは明らかにパン仕込み上、グルテンフリー穀物を小麦粉に変えた時の大きな目標である。

製パン工程を通し、グルテンの機能性を考えながらグルテンフリー食品の仕込みに光をあててみる²⁾。パンドウの基本的な構成成分（小麦粉、水、塩、イースト）を混ぜ、機械的に攪拌するが、そのとき塩は水で溶き；イーストには加水し、砂糖をそこに溶けこませ；粉粒子の外側の層から次々に水は中に侵入し変化して、その一部はグルテンマトリックスに進む。攪拌が続くにつれて、3次元の粘弾性ネットワークができ、その中に空気をトラップし、凝集性を与えるグルテンの塊になる。発酵の段階で、空気セルは伸び、粘弾性のネットワークがドウを通してでて来たガスの拡散を押さえる。ベーキングの間、ガスセルは広がり、ガスセル壁は薄くなり、グルテンネットワークは脱水し、のびて



図 4.2 各穀物粉で焼いたパンの比較⁶⁾

固まる。結果として、グルテンはもろくなり、破れて、セルが互いに結びつく。ドウの不連続のガス相はパンの連続したガス相に変わる。冷えると、グルテンネットワークの弾力性は保持され、良好なパンは固有の口腔内ガム食感性を与える。

パン仕込みでグルテンをある1つの成分に置き換えることが非常に難しいというのは、グルテンにはガス保持とパン構造のセットの両方の役割があるからである。

小麦デンプンも高度にパンやパン様食品の加工中に機能する。ドウが焼かれる時、小麦デンプンは糊化し、大きな吸湿性を示し、グルテンを効果的に脱水する。脱水したグルテンは、発酵の間にはガスセルが成長するときののび、その後は堅くなって脆くなり壊れる。デンプンはマトリックス中で又パンの冷却時に粘度をます。デンプンはそこで拡張形でパンの構造のセッティングに大きな役割を演じる。結果として、パンでは小麦デンプンとグルテンのバランスがとれて、その機能を発揮し、パンのあの慣れ親しんだクラム構造を作る。グルテンフリーパンも同様に、ガス保持能と構造のセッティング能をうまく備えた成分でバランスをとり仕込まねばならない。

1つの成分のみでグルテンに変えて仕込みを行なうのは大変に難しい、というのはグルテンはガス保持能と構造のセッティング能の両方に関与してるからである。多くのガス保持能のあるポリマーが考えられているが、そこにはベクチン、アルギン酸、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、ゼラチン、加工セルロース、アミロース、グアガム、ローカストビングラム、タラガム、コンニャクガム、ブタジエンスチレンラバー、パラフィン、石油ワックス、ポリビニルアルコール、ポリエチレングライコール、チューインガムベースである。同様に多くの構造セッティング用ポリマーがあり、そこには天然デンプン、加工デンプン、ポリ酢酸、コーンツエイン、ポリプロラクトン、ポリビニルアルコール(7,8)

がある。しかしながら、実際には市販グルテンフリーパン用として比較的短いリストに、小麦粉と置き換え可能成分、改良剤がでてくる。最も一般的に用いられているのは、タピオカデンプン、米粉、米デンプン、ポテトデンプン、コーンデンプン、卵白、キサンタンガム、グアガムである。

小麦パンシステム同様、好ましいテクスチャをグルテンフリー仕込みで得るため、各成分の混合と加水が必要で、その混合物と空気のアワとで核を作り、発生したガスでそのアワをふくらませ、バターあるいはドウ(空気の—不連続した形)を膨張させてパン(グルテンフリーのスポンジ)に変え、セットする。しかしながら考えておかねばならぬ事は、非常に吸湿性の成分に加水する必要があるため、グルテンフリーパンシステムの粘性が発酵とベーキング前、固いバターかあるいは非常に柔らかいドウになる点で、小麦パンシステムに似ているということである。したがって基本的な製パンのメカニズムの説明は、適応可能だが、含まれる加工の全てを述べるものではない。バターシステムに用いられる成分と技術もまた考えねばならないが、特に発酵とベーキングを通し、攪拌でできた空気の不連続的アワ形成を保持することに関心を持つ事である。グルテンフリーパンシステムを作る技術者は、しばしば“パンドウ”の判例内でのみ仕事をし、この小麦とグルテンフリーシステム間の基本的な重要なちがいを考慮しない。

もし食品中のグルテンの機能を十分に理解していれば、多分1つの成分か、数成分のシステムでグルテンの機能と同一のものとの置き換えを可能にすることが出来る。

市販のグルテンフリーパン仕込みは高度な企業秘密である。その高度の研究は、しかしながらアカデミック的である。表4.6は大豆、ミルク、卵タンパク質の仕込みである。

グルテンフリー製パンの基本的メカニズム

基本的なメカニズムの理解は、グルテンフ

表 4.6 グルテンフリーパンの仕込み^a

成分	大豆仕込み	ミルク仕込み	卵仕込み
精白米粉	35	35	35
ポテトデンプン	30	30	30
コーンフラワー	22.5	22.5	22.5
大豆粉	12.5	-	-
脱脂ミルク粉	-	12.5	-
卵粉	-	-	12.5
塩	1.7	1.7	1.7
イースト	2	2	2
砂糖	1	1	1
キシタンタンガム	1	1	1
水	105	105	105
トランスグルタミナーゼ ^b	0, 0.1, 1, 10	0, 0.1, 1, 10	0, 0.1, 1, 10
トータル	210.7	210.7	210.7

^a (9), ^b U/g of protein.

リーパンを作る時、助けとなり、最も良いパンを作る際、あるいはパン製造中起こる数々のトラブルの際に助けとなる。以後述べる記述は、グルテンフリー製パン時の全ての段階でのグルテンフリー仕込み成分について述べるものである。

3次元グルテンマトリックスの形成は、グルテンフリーパンミックス中では起こらない。結果的に攪拌は複雑な加工ではない。構成成分は機能する為に加水が必要で、空気は最終クラム構造の空気セル形成のための核サイト形成のために取り込まねばならない。ふつう、ガム類と他の成分の非常に強い吸湿性の性質は、固いバターあるいは緩いドウ粘度が得られるポイントまで加える水の必要量が得られるように仕込み中に用いられる。吸収は最も良くなり、そのとき十分に水があって全成分が水和し、なおまだ粘度を十分保持しバターやドウ中で空気泡を加工、安定化出来る。ガス保持成分は、グルテンよりずっと吸湿性でここで素早く水和し粘度を高める。

小麦システム性と同様、空気泡はバターあるいはドウ中に攪拌中にとりこまれ、もし発酵とベーキングにも残存していれば、それらはパンクラム中で気室になる。しかしながら、小麦ドウ中のグルテンマトリックスにトラップされ

る泡とはちがって、グルテンフリーバターあるいはドウ中の空気の泡はグルテンフィルムで分離されていない。その代わり空気泡は物質（例えばガム）からなる粘度マトリックス中に懸濁され、それはしばしば不安定であり、合体しやすい。合体の起こりやすい物質ほど、最終的パンクラムは荒っぽくなる。そこで、この空気の不連続バターあるいはドウ（例えば泡）は安定でねばならない。2つの大きなファクターはバター中で気泡の安定に影響する。はじめのファクター

は粘度である。

非常に簡単に、もしも粘度が低ければ、アワ全体は表面への移動し、そして周りに消えてゆく。2つ目のファクターは、界面活性材を用いて空気泡は疎水性であり、バターあるいはドウは非常に親水性であり、これに基づくものである。界面活性剤（例えば乳化剤）は、極性と非極性部位を同一分子内にもつ。それらは、気室の界面で疎水相と親水相の両方と相互作用でき、システムは安定する。界面活性材効果のグルテンフリーシステムでの例として、ジアセチル酒石酸モノグリセリドエステル、ジグリセリドエステル、卵アルブミン、ソジウムステアロイルラクチュレート（SSL）がある。

また、筋の通っている事ではあるが、攪拌の間取り込まれるガスは、大きな気室になり、完全に攪拌したバター、あるいはドウ中では十分にうまく分布せず、不規則なクラムとなる。そこで、素早く作用する起泡剤のようなもの、それはバターあるいはドウが完全に混合され、泡が完全に生じる前に攪拌でガスを発生してしまうので、仕込みから外さねばならない。もちろん、もし大きなエアポケットが、バター、ドウがパン鍋に入れられる時にできると、大きな空間がパンにできる。注意することは、ドウを入れる時、ドウを折り曲げない事、

他に空気をバターやドウ中に入れないことである。低圧エクストルージョンはこの目的には非常に効果的である。

小麦ドウシステム同様、システム中でイーストは砂糖を分解し CO_2 を生産する。システム中で CO_2 は水に溶け、炭酸塩バランスに影響する。時に、水相は飽和化する。次に CO_2 ガスは空気セルをふくらませ、バターあるいはドウの発酵を行なう。空気、あるいは CO_2 セルを取り囲む高粘度セル壁は、塊中へのガスの拡散を抑え、バター、あるいはドウをパン釜の中で膨らませる。この加工が進むにつれてセル壁は薄くなり、アワの安定化は次第に困難になる。もし発酵の過程があまり長いと、空気セルは合一化し、その結果大きな空気セルはやがて最終食品中の大きな空間のあるクラムになる。

- ・ 空気—不連続バターあるいはドウを、以下の方法で安定化せねばならない。
- (1) 十分な粘度で各空気セルの合体を守る。
- (2) 界面活性剤で疎水相、親水相、両方と相互作用する。

バターがある点まで発酵した時、そこではガスセルは最大に膨らむ（例えばもっと膨らんだらアワを不安定化するであろう）が、オープンの中に入れる準備ができた。はじめに、バターあるいはドウの表面のデンプンが糊化する。小麦ベースのシステムに於ける同様、デンプンが十分糊化するための水はない（即ちデンプン粒成分全てが分散するための）。アミロースはまずデンプン粒から染み出て、厚いアミロースリッチのデンプンゲルを最終生産物の表面に作る。加熱が進むに伴って、内部にあるデンプン粒は同じようなプロセスで進み、セル壁は出て来たデンプン成分で強固になる。セル壁の粘度は大きく上昇し、システム中の自由水は、元の状態の半結晶状態のデンプンに比べ糊化デンプンのより高い水分結合能のため素早くへる。セル壁はその結果、固くなり、もろくなる。それは破裂し、空気、あるいはイーストからのガスは壁を自由に通して流れる。アワからスポンジに変換が起こるのである。

水はもはやこの時点ではパン表面からは蒸発せず、表面の温度は上昇し、クラストは小麦ベースのシステム同様に茶色になる。重要な事は、最大のパンクラム与えるようにセルが拡張する時点で、準備されたようにデンプンの糊化、ペースト化がおこることである。もし糊化、ペースト化があまりに早く起こると、最大のセル構造に達する前にデンプンは構築のための粘度に達し、つまったクラムになる（図 4.3）。逆に、あまりにそのセットが遅いと、膨張が進みその結果大きな空間がクラムにできる（図 4.4）。

パン容積とテクスチャへのデンプン種類の影響が調べられた¹⁰⁾。バイタル小麦グルテン、小麦デンプン、ポテトデンプンあるいはタピオカデンプンで合成粉が作られ研究された。ポテトデンプンは糊化が早く、その結果、低容積パンであった。タピオカベースのパンは、はじめ十分ふくらみ、ベーキング後つぶれたが、それは十分のびたデンプンベースの連続相のためである。これらことは、バンドウ中のデンプンは、クラム構造を十分にのびた後で糊化しクラム構造をセットすべきであると示している。これらの結果は、デンプンベースの連続相が十分できるまではデンプンの糊化とペースト化が起きてはいけないということも示している。デンプン粒が無傷な状態で保持されれば、セル壁のクラックがおこり、ガスの連続相形成ができるようになる。グルテンフリーパン仕込み中、デンプンの正しいバランスをつかむ事は時に大きなチャレンジである。

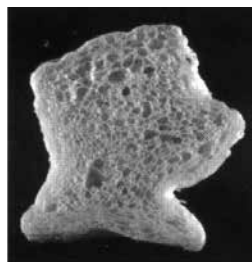


図 4.3 ベーキング中、早目にパン構造をセットした際のグルテンフリーパン⁶⁾

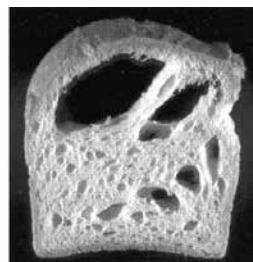


図 4.4 ベーキング中、遅めにパン構造をセットした際のグルテンフリーパン⁶⁾

パンの冷却に伴って、空気セルの周りの粘度は上昇し続ける。もし冷却に伴ってパンがはつきりシュリンクするならば、アワからスポンジへの移行はオープン中にては完全にはすすまず、不連続空気セルの容積は温度低下に伴って低下する。スポンジでは、パン中心部のガスは周囲の状態に平衡化し、破壊のためのdriving force(機動力)はない。粘度が上昇するに伴って、粘るクラムは十分固くなり、パンは簡単にスライスされる。

最終的なパンは少なくとも2つの連続相を含む。1つは空気、1つはガス保持粘度に達するのに用いられる成分混合体とベーキングの間デンプン粒から出るデンプン成分である。ゲルの

成分は、グルテンフリーパンのテクスチャとシェルフライフをきめる。はじめのガス保持成分(例えばガム、卵アルブミン)と構造セットする成分(即ちデンプン)のバランスは重要である。もし全体的にデンプンレベルがあまりに高すぎると、パン中のクラムはあまりにも固くなり、貯蔵中にもっと固くなる。もしガムあるいは卵レベルが高すぎると、パン構造はセットせず、湿った大きな空洞の粘ったパンクラムになる。小麦粉中では、ガスを保持する成分と構造をセットする成分は、元々バランスがとれている。グルテンフリー仕込みでは、ガス保持と構造セットをする成分のバランスを取るように工夫せねばならない。

参考文献

1. Hosney, R. C.: Leavened products. Chapter 13 in: Principles of Cereal Science and Technology, 3rd ed. AACC International, St. Paul, MN., 2010.
2. Engleson, J., and Atwell, W.: Gluten-free product development. *Cereal Foods World* **53**: 180-184, 2008.
3. AACC International. Approved Methods of Analysis, 11th ed. Method 10-05.05, Baking quality of cookie flour, final approval October 15, 1997, reapproval November 3, 1999; Method 10-90.01, Baking quality of cake flour, final approval October 8, 1976, reapproval November 3, 1999; Method 10-91.01, Use of layer cake measuring template, final approval October 15, 1997, reapproval November 3, 1999; Method 22-08.01, Measurement of alpha-amylase activity with the Rapid Visco Analyser, first approval November 8, 1995, reapproval November 3, 1999; Method 22-10.01, Measurement of alpha-amylase activity with the Amylograph, final approval May 5, 1960, reapproval November 3, 1999. AACC International, St. Paul, MN. [http://dx.doi.org/10.1094/AACCIntMethod-10-05.05\(-10-90.01; -10-91.01; -22-08.01; -2210.01\)](http://dx.doi.org/10.1094/AACCIntMethod-10-05.05(-10-90.01; -10-91.01; -22-08.01; -2210.01))
4. Shelke, K., Faubion, J., and Hosney, R. C.: The dynamics of cake baking studied by a combination of viscometry and electrical resistance oven heating. *Cereal Chem.* **67**: 575-580, 1990.
5. Atwell, W. A., Engleson, J. A., Muroski, A. R., Finnie, S. M., and Smith, S. A.: Gluten-free baked products and methods of preparation of same. U. S. patent application 20,090,092,716. 2009.
6. Cargill Inc., internal communication, used with permission
7. Engleson, J. A., Lendon, C. A., and Atwell, W. A.: System for gluten replacement in food products. U. S. patent application 20,080,038,434. 2008.
8. Engleson, J. A., Lendon, C. A., Hope, J., and Casper, J. L.: System for gluten replacement in food products. U. S. patent application 20,090,098,270. 2009.
9. Moore, M. M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H. M., and Arendt, E. K.: Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chem.* **83**: 18-36, 2006.
10. Kusunose, C., Fujii, T., and Matsumoto, H.: Role of starch granules in controlling expansion of dough during baking. *Cereal Chem.* **76**: 920-924, 1999.
11. Atwell, W. A.: Products from soft wheat flour: problems, causes, and resolutions. Pages 97-113 in: Wheat Flour. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. 2001.

骨代謝研究の第一人者の渾身の一冊

好評発売中



国内はもちろん海外からも高い評価を受け、数多く賞を受け、国際人名録に登録されてきた著者が、長年研究を続けてきた骨粗鬆症の予防と修復における食因子の役割についてまとめあげた、食品研究における貴重な一冊

骨粗鬆症の予防と修復へのアプローチ

骨の健康と食因子

■A5 版

■定価：(本体 3,000 円 + 税)

■発行：食品資材研究会

- 生体機能はホルモン（内分泌因子）によってダイナミックに調節されている
- カルシウム代謝および骨代謝のホルモン調節のしくみ
- 骨代謝調節機能を発揮して、骨粗鬆症の予防と修復に役立つ食因子の知見とその周辺

亜鉛、大豆成分イソフラボンのゲニステイン、納豆に高濃度に存在しているビタミン K2（メナキノール-7）、温州ミカンに高濃度に含有されているβ-クリプトキサンチン、植物成分の各種フラボノイドおよびカロテンの中で p-ヒドロキシケイ皮酸、アカモクの成分、ワサビの葉柄成分、ミツバチ花粉など。

■著者／山口 正義（やまぐち まさよし）

◆薬学博士。米国エモリー大学医学部内分泌代謝学部門客員教授（任用）。静岡県立静岡薬科大学助手、講師、静岡県立大学薬学部講師を経て、1991 年より静岡県立大学大学院生活健康科学研究科助教授、1993 年から同教授。この間に、米国ペンシルベニア大学、テキサス大学およびテキサス大学の各医学部で在外研究に従事。2007 年から現職。
現在、New York Academy of Sciences, American Society for Bone and Mineral Research, American Society of Biochemistry and Molecular Biology の会員、日本生化学会評議員、International Journal of Molecular Medicine, Journal of Osteoporosis など国際誌 10 誌の編集委員。

お申し込み・お問い合わせは、
FAX・お電話・WEBにて

電話：03-3254-9191 FAX：03-3256-9559
<http://www.newfoodindustry.com/cheese.html>

株式会社 食品資材研究会
〒101-0038
東京都千代田区神田美倉町10（喜助新神田ビル3F）

第 22 回腸内細菌学会プログラム

宿主 - 腸内細菌相互作用

—双方向制御の分子メカニズムに迫る—

会 期：2018 年 5 月 31 日（木）～ 6 月 1 日（金）

会 場：タワーホール船堀（東京都江戸川区船堀 4-1-1）

大会長：大野 博司（理化学研究所）

参加費：会員 6,000 円 一般 8,000 円 学生 1,500 円（事前登録）

会員 8,000 円 一般 10,000 円 学生 2,000 円（当日登録）

参加事前登録：平成 30 年 3 月 1 日（木）～ 5 月 2 日（水）

大 会 U R L：http://bifidus-fund.jp/meeting/index.shtml

お 問 合 せ：公益財団法人日本ビフィズス菌センター事務局

〒 170-0002 東京都豊島区巢鴨 1-24-12

TEL：03-5319-2669 FAX：03-5978-4068 e-mail：jbf@ipec-pub.co.jp

<学会プログラム> ※ プログラムは変更になる場合がございます。

5 月 31 日（木）

（午前の部）10：00～12：00

・ 10：00～10：10 開会の挨拶

・ 10：10～12：00 一般演題発表 A（若手枠）※優秀発表賞選考対象演題（小ホール）

（1 演題 7 分程度：質疑有）

一般演題発表 B（一般枠）（大ホール）

（1 演題 12～15 分程度：質疑有）

（午後の部）13：30～18：00

・ 13：30～14：20 海外特別講演 Dr.Mahesh Desai

（Principal Investigator, Luxembourg Institute of Health）

・ 14：30～17：00 国際シンポジウム 1（英語）※AMED-CREST 微生物叢 共催

『New trends in microbiome research- 微生物叢研究の新展開 -』（25 分×5 名）

岡田 随象（大阪大学大学院医学系研究科遺伝統計学）

竹田 潔（大阪大学大学院医学系研究科免疫制御学）

新蔵 礼子（東京大学分子細胞生物学研究所免疫・感染制御研究分野）

木村 郁夫（東京農工大学大学院農学研究科応用生命化学専攻代謝機能制御学研究室）

松岡 悠美（千葉大学医学部皮膚科学教室）

・ 17：00～18：00 一般演題 A ポスター発表（1F 展示ホール）

(夜の部)

- ・ 18:20 ~ 19:50 情報交換会 (2F 福寿 + 桃源)

13:30 ~ 15:30 市民公開講座『腸内フローラと健康』(小ホール)

辨野 義己 (理化学研究所 イノベーション推進センター)

中島 淳 (横浜市立大学医学部肝胆膵消化器病学教室)

6月1日 (金)

(午前の部) 9:30 ~ 12:00

- ・ 9:30 ~ 12:00 国際シンポジウム 2 (英語)

『Forefront of M cell biology-M 細胞生物学の最前線 -』(25 ~ 30 分× 5 名)

Dr. Ifor Williams (Professor, Pathology & Laboratory Medicine, Emory University, USA)

Dr. Neil Mabbott (Professor, The University of Edinburgh)

澤 新一郎 (北海道大学遺伝子病制御研究所感染病態教室)

佐藤 慎太郎 (大阪大学微生物病研究所 BIKEN 次世代ワクチン協働研究所)

金谷 高史 (理化学研究所統合生命医科学研究センター)

(午後の部) 13:00 ~ 16:40

- ・ 13:00 ~ 13:10 ビフィズス菌センター研究奨励賞授賞式 (10 分)

- ・ 13:10 ~ 13:30 受賞講演 1

- ・ 13:30 ~ 13:50 受賞講演 2

- ・ 14:00 ~ 16:30 シンポジウム (日本語)『宇宙と微生物』(25 ~ 30 分× 5 名)

基調講演: 太田 敏子 (JAXA プロジェクトアドバイザー / 筑波大学名誉教授)

高橋 智 (筑波大学医学医療系解剖学・発生学)

那須 正夫 (大阪大谷大学薬学部 / 大阪大学名誉教授)

槇村 浩一 (帝京大学医療共通教育研究センター)

加藤 完 (理化学研究所統合生命医科学研究センター)

- ・ 16:30 ~ 16:40 閉会の辞

New Food Industry Editorial Board

■ボードメンバー（敬称略 / 五十音順）	
氏 名	所 属
大石 隆介 氏	（明海大学 経済学部経済学科）
大谷 元 氏	（信州大学名誉教授）
岡 希太郎 氏	（東京薬科大学名誉教授）
坂上 宏 氏	（明海大学歯科医学総合研究所（M-RIO）所長）
須見 洋行 氏	（倉敷芸術科学大学名誉教授）
早田 邦康 氏	自治医科大学附属さいたま医療センター 自治医科大学大学院 基礎系総合医学 教授循環器 病臨床医学研究所 所長
宮尾 茂雄 氏	（東京家政大学教授）
山口 正義 氏	（University of California, Los Angeles (UCLA), 医学部）

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

ニューフードインダストリー 第60巻 第3号

印 刷 平成 30 年 2 月 25 日
 発 行 平成 30 年 3 月 1 日
 発行人 平井 朋美
 編集人 今西 和政
 発行所 株式会社食品資材研究会
 〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10(喜助新神田ビル3F)
 T E L : 03-3254-9191 (代表)
 F A X : 03-3256-9559
 振込先: 三菱東京UFJ銀行 京 橋 支 店 (普通) 0070318
 三 井 住 友 銀 行 日 本 橋 支 店 (当座) 6551432

印刷所 株式会社メイク
 定 価 本体2,000円 + 税 （送料100円）

e-mail: newfood@newfoodindustry.com