

New Food Industry

New food indust. 61 (4): 2019.

4

レスター・パッカー教授追悼 特集 代替医療としての抗酸化物

- -レスター・パッカー教授追悼号- 巻頭言
- 酸化ストレス研究の変遷と現状—
酸化ストレス研究の先駆者としてのLester Packer 先生を偲んで
- きのこと菌糸体の機能性研究と代替医療への応用
- カフェインを低減化した緑茶（低カフェイン茶）と後発酵茶の開発および機能性
- 代替医療素材としてのR- α -リボ酸の科学
- L-カルニチンとセルフメディケーション
- 海藻カロテノイド「フコキサンチン」による抗肥満作用

自然の力で健康を

天然物から抽出・精製した多彩な製品

- ブルーベリーエキス
- カシスエキス (Cassinol®)
- イチョウエキス (国産葉使用)
- イソフラボン (20%~80%)
- 茶抽出物
- グリーンレイボスエキス (アスパラチン含量20%以上)
- オレアノール55 (オレアノール酸55%)
- アメリカンジンセンエキス (総ジンセノイド15%以上)
- 鉄クロロフィリンナトリウム
- DHA (22%~70%)
- EPA (18%~70%)
- γ-リノレン酸 (月見草油)

弊社独自の製品を健康食品、一般食品など
あらゆる商品企画にお役立て下さい。



タマ生化学株式会社

本社 東京都新宿区西新宿1-23-3 〒160-0023
Tel (03) 5321-6051 Fax (03) 5321-6055

酸化防止剤

B B H A
サステン乳液A
サステン乳液T

Sústane



日揮ユニバーサル株式会社

触媒化成品営業部／東京都品川区大崎1-6-3 日精ビル
電話(03)5436-8470 FAX(03)3493-9125

北海道ポテトたん白から生まれた調味料

アレルギーフリー

non-GMO

産地限定

機能性

低塩

ポテミック

低塩タイプの
天然マルチアミノ酸

ポテミック P-70

HVP複合調味料

ポテ味

ポテトたん白を酵素処理した
ポテトペプチド

コスモ食品株式会社

本社:〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町12番2号
TEL 03-3249-0390 FAX 03-3666-2165

URL ▶ <http://www.cosmo-foods.co.jp/>

E-mail ▶ headoffice@cosmo-foods.co.jp

New Food Industry 食品学術誌のご案内

◆この雑誌についてのお問合せ◆
TEL :042-312-0836

エヌエフアイ合同会社 検索

New Food Industry とは

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

年間購読料

雑誌コード：89591

前払い：1冊 2,160 円（税込）×12 ヲ月 10%割引 23,328 円

送料【100 円】×12 ヲ月 1,200 円 合計：24,528 円

後払い：定価

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

ミルク

至高の食品がわかる

伊藤 敏敏 著

■A5 版／156 ページ

■定価：(1900 円 + 税)

■発行：エヌエフアイ



本書はミルクについて平易に解説された専門書です。著者が日本大学生物資源科学部において教鞭を執られていた際に執筆し教科書として発刊していましたが、本書が教科書だけでなく広く牛乳・乳製品工場で働く技術者の再勉強にも役立つ参考書として新たに発刊いたしました。

まえがきより

世に出ている牛乳の科学や製造学の参考書の多くは、堅くて難しくてすぐに頭の痛くなるような専門書か、一般読者向けの啓蒙書でも、ことさら健康的価値や機能性などばかりを取り上げたものが多く、また一方では、牛乳は体に有害であるかのごとく書かれた本までが出回る有様で、ミルクの本当の姿をじっくりと知りたい者にとっての適書が見当たりません。本書はその要求を満たすものとして、一般読者にもよく解るように、また大学の教科書としても使えるように、さらには牛乳・乳製品工場で働く技術者の再勉強にも役立つようにと考えて書いたものです。この本を通してミルクに関する理解が少しでも増えて、食材としての価値がもっと見直されることを願うものです。

第1章 ミルクの科学的特性 一秘められた力

1. ミルクは食糧として作り出される唯一の天然物
2. 牛乳、母乳その他の動物の乳はどのように違うのだろうか
3. 乳はなぜ白いのだろうか
4. 乳の成分の特性とそのパワー
5. 牛乳の構成成分のまとめ
6. 牛乳のアレルギー性
7. 乳児用調製粉乳はどこまで母乳の代用になるか
8. 牛乳に人の免疫力を付けられるか
9. 特定保健用食品（機能性食品）は乳の研究から生まれた
10. 牛乳はどのようにして作られるか（餌が牛乳にかわるまで）
11. 牛乳成分の含量はいつも同じなのだろうか

第2章 乳製品の知識と製造の基本原則

1. 日本ではどの位の牛乳・乳製品が食べられているのだろうか
2. 農家で搾った牛乳が工場に入るまで
3. 牛乳・乳製品の分類と規格
4. 牛乳の加熱殺菌について
5. 牛乳の均質化処理（ホモジナイズ処理）
6. 発酵乳と乳酸菌
7. チーズ
8. バター
9. アイスクリーム
10. 濃縮乳（練乳、コンデンスミルク、エバミルク）
11. 粉乳

■著者／伊藤 敏敏（いとう たかとし）

◆農学博士

1937 年愛媛県生まれ。東北大学大学院農学研究科修士課程修了後、1962 年株式会社ニチレイ入社。1963 年東北大学農学部助手。1976 年同大学助教授。1989 年同大学農学部教授を経て 2001 年日本大学生物資源科学部教授。東北大学名誉教授。

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

レスター・パッカー教授追悼 特集 代替医療としての抗酸化物質

- —レスター・パッカー教授追悼号— 巻頭言
..... 松郷 誠一 247
- 酸化ストレス研究の変遷と現状—
酸化ストレス研究の先駆者としての Lester Packer 先生を偲んで
The changes and present state of research of oxidative stress-In the memory of
Professor Lester Packer being a pioneer of the research of oxidative stress
..... 河野 雅弘, 小澤 俊彦 248
- きのこと菌糸体の機能性研究と代替医療への応用
Application for alternative medicine in functional research on cultured mycelia
of the higher Basidiomycetes mushrooms
..... 中村 友幸 259
- カフェインを低減化した緑茶（低カフェイン茶）と
後発酵茶の開発および機能性
Health benefits of post-fermented green tea with reduced caffeine as a functional food
..... 斎藤 貴江子, 中村 順行 270
- 代替医療素材としての R- α - リポ酸の科学
..... 生田 直子, 松郷 誠一 279
- L - カルニチンとセルフメディケーション
L-Carnitine on self-medication
..... 王堂 哲 291
- 海藻カロテノイド「フコキサンチン」による抗肥満作用
..... 前多 隼人 307

解 説

- 養魚飼料原料としての食品廃棄物やバイプロー 3.
ウェハース屑, ゴマ油粕, 廃棄マヨネーズ
..... 酒本 秀一 313

漢方の効能

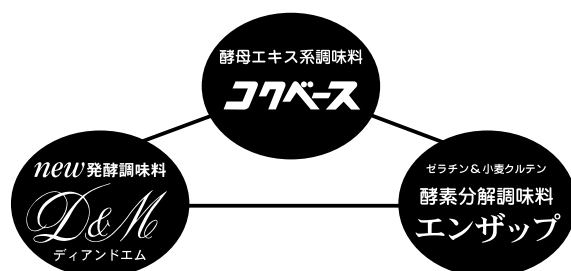
- (6) 薬酒について YAKUSHU
..... 鈴木 龍一郎 324

連 載

- 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —
オキナグサ *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Bercht. et C. Presl
(=*Anemone cernua* Thunb.) (キンポウゲ科 Ranunculaceae)
..... 白瀧 義明 326
- デンマーク通信 デンマークのオンラインスーパー
..... Naoko Ryde Nishioka 330

おいしさと健康に真剣です。

酵素分解調味料なら
大日本明治製糖へ



新発売! 乳製品にベストマッチな調味料

コクベス

ラクティックイーストエキス

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



大日本明治製糖株式会社

食品事業部

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

レアシュガースウィート

THE RARE SUGAR BRAND



香川発素材
|
希少糖



希少糖 は、自然界には存在量が少ない単糖で、香川大学の何森先生の研究により大量生産が可能となりました。希少糖の D- プシコースや D- アロースは、豊富な機能性を持つことから注目が集められています。ブドウ糖・果糖・希少糖をバランス良く含む 希少糖含有シロップ（商品名：レアシュガースウィート）は、砂糖の 9 割の甘味度で自然な甘さです。

美味い甘味料として様々な食品にご使用頂けます。

炭酸・スポーツ飲料

デザート・冷菓

ベーカリー

菓子類

惣菜

栄養ドリンク

サプリメント

健康食品

トクホ

レアシュガースウィート



異性化糖

でんぷん

ぶどう糖

果糖

D- プシコース

D- アロース

ヘルシーな理想バランス甘味料

発売元



株式会社レアスウィート 高松事務所
香川県高松市番町 1-1-5 ニッセイ高松ビル7階
TEL 087-823-1689 FAX 087-823-1691

販売者
お問合せ



松谷化学工業株式会社
兵庫県伊丹市北伊丹 5 丁目 3 番地
TEL 072-771-2010 FAX 072-771-7455

—レスター・パッカー教授追悼号—

巻頭言

金沢大学名誉教授 松郷 誠一

日本でも著名であり、世界のフリーラジカル科学の先頭を走って来たカリフォルニア大学バークレー校のレスター・パッカー元教授（南カリフォルニア大学教授）が2018年7月27日心疾患により他界された。レスター・パッカー教授は600報を超える論文ならびに、数多くの本を上梓された。また、オーガナイザーしても優れた能力を発揮し多くの国際会議の運営にも携わって来られた。

レスター・パッカー教授は大変な親日家でもあり、日本にも数多く訪問し、その土地の食事や文化を楽しまれた。時には温泉に入ることもあり、和室での滞在も楽しんでた。日本にいる彼の研究室にいた研究者を訪ねることも彼の喜びの一つであったように思う。

彼の卓越した科学に対する姿勢ならびに、深い洞察は彼の研究室で学んだ多くの研究者（日本人を含め）に影響を与えている。パッカー研究室からは多くの著名な科学者を輩出しており、これはひとえに彼の人柄と科学者としての姿勢によるものであり、彼が若い研究者の長所を伸ばすことに長けていたからだと思われる。彼の初期の仕事はミトコンドリアの生化学的な研究が主であったが、その後ミトコンドリアのエネルギー代謝に関わる活性酸素、酵素群、さらにはミトコンドリア内に存在するエネルギー代謝に関わる抗酸化物質などに展開していき、近年は抗酸化物質のシグナル伝達にも興味を抱き、研究を進めて来られた。

私自身も彼の影響を強く受けた人間の一人であり、彼のコンセプトである『生理学的条件』と『Keep Moving』という言葉座右に研究を行なって来た。彼の逝去は彼の研究室で学んだ多くの研究者に深い哀しみを与えたが、立ち止まることは、彼の教えに反すると思われる。彼の足跡をたどり、学んだことを伝承していくことこそが、彼の喪失感を埋めることになると考えていた。彼の仕事は上記のように多岐にわたり、一つ一つのテーマが頂きをなすものであり、一つのテーマに収斂することは難しいと考えていた。

この度、ニューフードインダストリーの編集長今西和政氏より、『代替医療としての抗酸化物質』と言うテーマでまとめてみたいという申し出を受けた。このテーマはレスター・パッカー教授が体现しようとしていた抗酸化物質の将来の可能性につながるものであると思われる。この企画に賛同いただき、寄稿いただいた方々に感謝する次第である。この特集号が抗酸化物質の新可能性を見出そうとする研究者の一助になることを願う次第である。

酸化ストレス研究の変遷と現状— 酸化ストレス研究の先駆者としての Lester Packer 先生を偲んで

河野 雅弘 (KHONO Masahiro)¹ 小澤 俊彦 (OZAWA Toshihiko)²

¹ 東京工業大学, ² 日本薬科大学・放射線医学総合研究所

Key Words : 酸化ストレス 酸素活性種 抗酸化物質 抗酸化計測 電子スピン共鳴 (ESR) ビタミン類 ポリフェノール 健康寿命の延伸 漢方薬

The changes and present state of research of oxidative stress-In the memory of Professor Lester Packer being a pioneer of the research of oxidative stress

Masahiro Khono¹, Toshihiko Ozawa^{2,3}

¹Tokyo Institute of Technology, ² Nihon Pharmaceutical University, ³National Institute of Radiological Sciences

Key Words: oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidative substance, antioxidative measurement, electron spin resonance (ESR), vitamins, polyphenols, prolongation of healthy life expectancy, Chinese herbal medicine

概 要

抗酸化研究の先駆者であったカリフォルニア大学バークレー校の Lester Packer 教授に導かれて、日本でも多くの研究者が酸化ストレス研究に携わっている。Packer 教授は親日家と言われているが、日本側の窓口として、岡山大学医学部神経情報学部門の森昭胤名誉教授がご尽力されたことを知る人は少ない。1980 年代初め、酸化ストレス研究は、自動酸化と呼ばれる脂質の過酸化反応を停止あるいは抑制することを目的としていた。森先生は、てんかんモデルラットを使った酸化ストレス研究に取り組まれていた。化学反応としては、過酸化水素と鉄イオンを組み合わせた酸化傷害を発症させる実験であった。一方、生体内の酸化ストレスを知る手段としては、名古屋大学医学部の八木国男先生の開発した過酸化物質計測法（八木法と呼ばれた）が重要な役割を果たしていた。どのような研究分野においても大切なのは評価計測技術であることは否めない。この 3 名の著名な教授が OCC (Oxygen Club of California) 会にて出会ったことが、今日の酸化ストレス研究の幕開けであった。本稿では、酸化ストレス研究が、どのような変遷を経て発展を遂げてきたかについて紹介する。

はじめに

本稿の著者の一人である河野が Lester Packer 教授にお会いしたのは 1980 年代半ばであった。国内で酸化ストレス研究の先駆者であった岡山大学医学部の森昭胤先生（岡山大学名誉教授）の紹介で、カルフォルニア大学バークレー校を訪問したのが最初であった。奥様の An Packer さんにお会いしたのもそのころである。ご夫妻は、親日家で留学生の多くがお世話になっていた。その後、Packer 先生がサンタバーバラ（USA）で主催されていた OCC 学会に参加する途中に Packer 研究室を、何度か訪問した記憶がある。この OCC 学会には我々を含め、酸化ストレス研究を行っている日本の研究者が多数参加していた。

Packer 研究室では、抗酸化研究の課題の一つとして、電子スピン共鳴装置（ESR）を用いて脂溶性の抗酸化物質であるビタミン E ラジカルを観測され、その動的な挙動から脂質過酸化に関係する酸化ストレス反応研究を積極的に推進されていたと記憶している。この頃は脂質過酸化反応を抑制することが抗酸化であるとの概念が定着していた。また、河野は 1980 年にノーベル化学賞受賞者のポーリング博士（スタンフォード大学のポーリング研究所）にお会いして、がんや風邪の予防に、水溶性の抗酸化物質であるビタミン C が重要な役割を担っていると教えていただいた。丁度、そのころ共著者の小澤は、スタンフォード大学に留学し、活性酸素の一つであるスーパーオキシド (O_2^-) と金属ポルフィリンの反応について研究を始めていた。その後、小澤が Packer 研究室を訪れた際にサンフランシスコ（USA）で河野と偶然会ったことがきっかけで共同研究が始まった。二人は、その後、高知工科大学（2000-2003）、東北大学の未来科学技術共同研究センター（未来量子生命反応工学創製：2003-2011）、東京工業大学（量子生命科学技術創生：2011-2015）において、ゲノム、プロテオーム、メタボロム解析など先端的な分析機器と電子スピン共鳴装置や電子スピン共鳴画像装置を応用した酸化ストレス

研究を推進し、今日に至っている。

本稿では、私共 Packer 先生に影響を受けた研究者として、これまでの研究で明らかとなった酸素活性種の研究内容を紹介することで感謝の意を表したい。

§. Packer 先生、森先生との共同研究¹⁻⁸⁾

本稿を寄稿するにあたり、我々が取り組んだ“活性酸素・フリーラジカルの関与する酸化ストレス研究”の情報を整理してみた。最初に、Packer 先生と森先生との共著の論文を調べてみると、8 つの論文を見つけることができた。論文の中には、抗酸化物質が示す活性酸素種であるスーパーオキシド (O_2^-) とヒドロキシルラジカル ($HO\cdot$) 消去法の研究や ESR- スピントラップ法を用いたフェントン反応 ($Fe^{2+}-H_2O_2$ 系) で生じるヒドロキシルラジカルのスピニングダクト (DMPO-OH) の寿命の問題、アスピリンを摂取したときに惹起される胃の粘膜障害の ESR 画像などがあり、抗酸化研究の一つのアプローチの方法として電子スピン共鳴法を用いたフリーラジカル計測に関心を示されたことが分かる。Packer 先生と森先生のお二人が生体傷害の機構に活性酸素・フリーラジカルが重要な役割を担っていることを認識されていたことが理解できる。

§. 酸化ストレスとは⁹⁻¹⁸⁾

それでは、現代科学で言われている生体に傷害を与える酸化ストレスとは実際にはどういうことであろう。ストレスとはももとは物理学的用語であり、「物体が刺激を受けた時に内部に歪が生じる」という意味である。この概念を生体反応に適応させたのがカナダの内分泌学者 Hans Selye であり、彼が 1950 年代に発表した論文^{9, 10)}の中で提唱された考えである。それは、「外的な要因によって反応する生体内の状態、すなわち刺激によって生体の恒常性の乱れを引き起こす反応」をストレスと定義し、ストレスを引き起こす外的要因をストレッサーと呼んだ。近年、活性酸素などの発見により、外的

表1 いろいろなストレスの種類

生理的ストレス	物理的ストレス	温度、湿度、光、音、紫外線、放射線、気圧
	化学的ストレス	酸素、pH、浸透圧、金属イオン、エタノール、環境汚染物質（窒素酸化物、硫黄酸化物など）、有害化学物質
	複合ストレス	飢餓、加齢、炎症、感染、アレルギー、外傷、虚血
	生活上のストレス	家族の病気・死亡、離婚、引越、借金、出産、受験
心理的ストレス	職業上のストレス	人間関係、転勤、配置転換、昇進
	その他のストレス	戦争、自然災害

要因により生体内で酸化的傾向に導く現象を酸化的ストレス (oxidative stress) と言うようになった。外的要因には表1に示すように物理的なもの、化学的なもの、およびそれらが組み合わさった複合的なものなどがある¹¹⁾。

酸化は分子が電子を放出する反応、還元とは電子を受け取ることを意味しているが、酸素は一つの分子に二つの孤立電子を有しており、電子媒体としての役割を担っている。そのため、ある分子に酸素 (O_2) が結合することにより酸化反応が起こる。さらに、動物は生体内でエネルギーを産生するために酸素を必要とするが、酸素の一部はエネルギー代謝の過程で副産物として活性酸素に変わる。この活性酸素は正常な状態では抗酸化酵素や抗酸化物質により速やかに除去されるが、抗酸化機序が十分に機能しなくなったりしたときには活性酸素が体内に蓄積し、この活性酸素がストレスサーとなって「酸化ストレス」状態になる。すなわち、「酸化ストレス」とは、生体内の酸化・還元状態の維持機構が破綻した状態と考えてもよいと思われる。

酸化ストレスはアルツハイマー型認知症^{12, 13)}、パーキンソン病¹⁴⁾、糖尿病合併症^{15, 16)}、運動ニューロン病による神経変性¹⁷⁾ など広範囲の病気の進行に寄与していると考えられている¹⁸⁾。しかし、多くの場合、酸化物質が病気の要因になっているのか、それとも病気の発症により組織の損傷から二次的に酸化物質が生成されているのか、明確にはなっていない。

§. 酸化ストレス傷害と酸素活性種とフリーラジカルの関係¹⁹⁻³¹⁾

老化や炎症、免疫応答などに、活性酸素やフリーラジカルの関与することが1980年代初め

に提案されてから、約40年の時を経て酸化ストレス傷害を惹起するのが活性酸素種や活性窒素種である酸素活性種であること、これら酸素活性種の酸化ストレス傷害を抑制する体内抗酸化酵素の役割も明らかにされつつある。

さらに、今回課題として取り上げられている「代替医療としての抗酸化物質」が生体内の酸化還元平衡を保つ機構（恒常性維持機構）を補完するのが体外から摂取する抗酸化物質である。抗酸化物質の多くが植物由来で、代表的な抗酸化物質として、ビタミン類（ビタミンC、ビタミンE、コエンザイムQ）など水溶性や脂溶性抗酸化物質が取り上げられている。今日では、酸素活性種を消去する機能を有するビタミン類（ビタミンA、ビタミンB）も抗酸化物質に分類される。さらに、ポリフェノール類なども、その役割を担うことになる。

さらに、2003年、ヒトの遺伝子解析が完了し、今や、ポストゲノム研究として、アミノ酸を基質とするタンパク質や酵素の役割も論じられる時代となってきた。ヒトは12種の必須アミノ酸を摂取することで成長を遂げているが、高分子物質であるアルブミンやビリルビンなどタンパク質の多くが、酸素活性種である一重項酸素 (1O_2) やヒドロキシルラジカルの生成を抑制する分子種であることはよく理解されていない。その理由は脂溶性、水溶性の条件下で働く抗酸化物質の機能を計測評価する技術が確立していなかったことに起因する。

さらに、狩猟民から農耕民への食習慣の変化が人類に進化をもたらし、90億とも推測されている人口増加も食習慣の変化がもたらした。ここには、生体内の代謝機構に関係する酸素の体内動態が重要な役割を担っている。現代では、

難問に遭遇すると遺伝子に組み込まれていて、今は分からないが将来、解明できるとの発言する研究者も多い。しかし、ヒトの寿命を決定する因子として最も重要なのは酸素活性種の生成を伴う酸素の代謝機構である。

長寿研究では、加齢に伴う機能の低下が老化であると定義されている。統計学的な検証が進み、健康寿命と平均寿命、最大寿命などが話題となるが、ヒトの恒常性維持に関係して統計学的に有意性のある情報が男女の寿命差に関するものである。特に、日本では、生活環境が安定した第二次世界大戦後のヒトの寿命の男女差は歴然としており、その差は約 13% である。この差が何に起因するかを明らかにすることが、最も、重要な課題であると考えている。明治維新から約 150 年の日本の人口動態の変化は、社会的な要因に影響されながらも、男女の差は常に変わることはない。出生率の男女差が 5% であることを加味すると、生活習慣（喫煙、飲酒、食事や運動、睡眠）が関与するのは 8% である。現在、世界の趨勢は究極の課題であるヒトの寿命を科学する時代になろうとしている。ヒトにとって永遠の課題は健康長寿であり、平均寿命や健康寿命の延伸こそが、生命科学の発展のゴールであるともいえる。

§. 酵素、細胞系による活性酸素・フリーラジカルの産生系³²⁻⁴⁶⁾

我々が共同で、またそれぞれのグループで行ってきた酸素活性種である活性酸素種および活性窒素種の研究論文を精査すると、代表的な活性酸素の産生系である NADPH 酸化酵素が産生する好中球を用いた研究が最初であることが分かる。その後、キサンチン酸化酵素や NADPH 酸化酵素、一酸化窒素合成酵素、チロシナーゼ酸化酵素による酸素活性種（活性酸素や活性窒素）の研究がある。また、ミトコンドリア内での活性酸素の生成も明らかにした。ごく最近の報告では、皮膚の白斑問題を提起したメラニン合成酵素が明らかとなった。

§. 活性酸素・フリーラジカルの物理・化学的な産生系の研究⁴⁷⁻⁸⁶⁾

酸素活性種の研究では、培養細胞や白血球細胞、酵素などを使っている。しかし、生理的な条件下で酸素活性種を生成させて計測する方法を開発するには、制限を受けることがある。そのため、酸素活性種の化学的な特性を明かにする目的で、物理化学的な酸素活性法の計測方法を開発し、抗酸化計測に利用してきた。その研究開発の過程を述べる。

§. 活性酸素・フリーラジカル消去計測法の開発⁵³⁻⁵⁸⁾

酸素活性種の選択的な計測法が確立したことで、酸素活性種の消去機能が明らかになる。酸素活性種の研究は、フェントン反応と呼ばれるヒドロキシルラジカルから始まり、スーパーオキシド、一重項酸素、過酸化水素の順になる。溶存酸素の計測法も飛躍的な発展を遂げている。これら活性酸素の測定には、先に述べた物理化学的な産生法と生理的な条件での生成方法がある。生体内の抗酸化機能の研究には生理学的な条件での生成と消去の研究が求められている。しかし、体内における 4 つの活性酸素と活性窒素を選択的に計測する方法は確立しておらず、今後の課題でもあるが、同時に酸化ストレス傷害の研究にゴールが見出せない理由でもある。

§. 抗酸化物質による酸素ストレス反応の消去機能⁶⁵⁻⁸⁶⁾

酸素活性種の産生系の機構が解明され、これらの機構を応用した抗酸化物質の機能研究を行ってきた。研究対象には、漢方素材 (1008 種)、イチジクの抗酸化機能研究 (37 種)、赤潮プランクトンから分離された機能物質 (約 20 種)、ナスや生姜、黒ニンニク、ブドウエキス（プロアントシアニジン）など幅広い応用研究が行われている。特に、ヒドロキシルラジカル消去能は抗酸化物質を溶かす溶媒に消去活性があることから、生体関連物質の多くについて、ヒドロ

キシルラジカル消去機能は明らかにされていない。同様に、一重項酸素の生成が疎水条件、親水条件で行われていることもあり、未解決の課題として残されている。

§. 酸化ストレスのメタボローム解析⁸⁷⁻¹¹¹⁾

酸素活性種による生体傷害を明らかにするため、遺伝子解析やメタボローム解析が推進されている。例えば、キサンチン酸化酵素の研究は虚血再灌流障害など脂質代謝異常によって惹起される現象である。それらを精査すると、体内で代謝されるプリン体がキサンチン酸化酵素の基質となることが分かってきた。さらに、糖尿病合併症である慢性腎臓病や末期腎不全の発症にも活性酸素代謝系が係ることが明らかになっている。糖尿病の合併症が発症する機構に脂質や糖の代謝物であるアルデヒド化合物の存在が示唆されている。これらの化合物が活性化する機構にも、ヒドロキシルラジカルが関与することが分かっている。そのため、4つの活性酸素(O_2^- , $HO\cdot$, 1O_2 , H_2O_2)と2つの活性窒素(NO , NO_2)の体内の動的挙動の解明は不可欠であるといえる。さらに、免疫機構に関係し炎症を誘発するといわれている、NADPH 酸化酵素の活性化に脂肪酸の膜刺激が関与することも明らかになっている。高齢者肺炎患者の好中球は活性酸素を生成する機能が低下していることも明らかになった。

まとめ

酸化ストレス研究の歴史は、酸敗と呼ばれる食品劣化に関係する脂質酸化を抑制するビタミンEの研究から始まったといえる。脂質の過酸化反応は、紫外線や放射線、加熱、冷却、金属イオンで惹起される反応である。そのため、酸化ストレスの反応では自動酸化反応が提案され、酸素に連鎖的な脂質の酸化生成物の研究から始まったといっても過言ではない。Fridovichの論文以降、活性酸素の一つであるスーパーオキシドの生成が酸化ストレスの鍵を握る化合物

であることが認識されている。しかしながら、スーパーオキシドの化学的な反応性は低く、脂質酸化を引き起こす可能性が低いことが指摘されている。そのため、酸化ストレスを惹起する活性分子種の存在が議論されている。ここで、重要となったのが金属イオンと過酸化水素の存在によって惹起される脂質過酸化物の生成機構である。

酸化ストレスにより修飾を受ける主な標的には、脂質、タンパク質(アミノ酸)、核酸(DNA, RNA)など主要な生体構成成分が含まれる。中でも、脂質(多価不飽和脂肪酸)は、最も酸化に鋭敏な生体成分であり、脂質過酸化反応と呼ばれるフリーラジカル連鎖反応により、脂質の酸化損傷は周辺に拡大される。また、脂質過酸化反応により生成される様々な最終産物の中には、アルデヒド構造などを持つ親電子性物質が含まれるため、脂質過酸化反応の影響はタンパク質や核酸など、他の重要な生体成分にも及ぶことになる。しかし、生体内の酸化ストレスを惹起する活性分子種が特定されていないことが、課題解決を難しくしている。

一方、抗酸化物質の研究は、常に、予防医学的な観点から取り上げられてきた。健康寿命の延伸には、未病の科学(健康と病気の境界領域)が重要である。しかしながら、未病の診断法は確立していない。ポストゲノムプロジェクトとして代謝物解析など新たな手段で呼ばれる生理学的な指標が開発され、さらなる発展が期待される。しかし、ヒトは、一人一人が違った遺伝子、違った環境で生活しているため、健康と病気の境界領域が分からないといった課題も残されている。ただ、高齢化社会において、加齢に伴う老化が酸素代謝に由来する酸化ストレスで惹起されることは明らかである。Packer 先生が提起されていた抗酸化研究は、生活習慣である飲酒、喫煙、食事、睡眠、運動の領域まで拡大しており、今後も、酸化ストレス研究の深淵が望まれる。

参考文献

1. A. Mori, M. Kohno, T. Masumizu, L. Packer: Alpha-guanidinoglutaric acid as a free radical generator. *Biochem Mol Biol Int*, **37**, 371-374, 1995.
2. A. Mori, M. Kohno, T. Masumizu, Y. Noda, L. Packer: Guanidino compounds generate reactive oxygen species. *Biochem Mol. Biol Int*, **40**, 135-143, 1996.
3. Y. Mizuta, T. Masumizu, M. Kohno, A. Mori, L. Packer: Kinetic analysis of the fenton reaction by ESR-spin trapping. *Biochem Mol Biol Int*, **43**, 1107-1120, 1997.
4. A. Mori, M. Kohno, M. Shinmei, L. Packer: Hydroxyl and superoxide anion radical scavenging activities of natural source antioxidants using the computerized JES-FR30 ESR spectrometer system. *Biochem Mol Biol Int*, **42**, 35-44, 1997.
5. T. Masumizu, K. Fujii, M. Kohno, S. Nagai, Y. Odagaki, M. Imanari, A. Mori, L. Packer: Three dimensional electron spin resonance (ESR) imaging of internal organs in living mice. *Biochem Mol Biol Int*, **46**, 707-717, 1998.
6. K. Anzai, Y. Miura, J. Ueda, T. Ozawa, Y. Noda, A. Mori, L. Packer: In vitro studies of antioxidant activity of EPC-K1, a conjugate of vitamin C and vitamin E. *Res. Commun. Biochem. Cell & Mol. Biol.*, **2**, 129-138, 1998.
7. Y. Noda, M. Kohno, A. Mori, L. Packer: Automated electron spin resonance free radical detector assays for antioxidant activity in natural extracts. *Methods Enzymol*, **299**, 28-34, 1999.
8. A. Mori, T. Masumizu, M. Kohno, Y. Noda, L. Packer: Three dimensional ESR imaging of indomethacin induced gastric ulcer in living mice, *Res Commun Biochem Cell & Molec. Biol.*, **3**, 205-214, 2000.
9. H. Selye: Stress and the General Adaptation Syndrome- *Brit. Med. J.*, **1**, 1383-1392, 1950.
10. H. Selye: What is stress? *Metabolism*, **5**, 525, 1956.
11. 坂内四郎:「ストレス探求」, 化学同人, p.1. 1994.
12. Y. Christen: Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**, 621S, 2000.
13. A. Nunomura, R. Castellani, X. Zhu, P. Moreira, G. Perry, M. Smith: Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **65**, 631-641, 2006.
14. A. Wood-Kaczmar, S. Gandhi, NW. Wood: Understanding the molecular causes of Parkinson's disease. *Trends Mol. Med.*, **12**, 521, 2006.
15. G. Davi, A. Falco, C. Patrono: Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid. Redox Signal.*, **7**, 256-268, 2005.
16. D. Glugliano, A. Ceriello, G. Paolisso: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, **19**, 257-267, 1996.
17. M. Cookson, P. Shaw: Oxidative stress and motor neurone disease. *Brain Pathol.*, **9**, 165-186, 1999.
18. 赤池考章, 鈴木敬一郎, 内田浩二編著, 「活性酸素シグナルと酸化ストレス」, 実験医学増刊, Vol. 27, 羊土社, 2009.
19. Finkel, T. Holbrook, N. J.: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **408**: 239-247, 2000.
20. Halliwell, B., *et al.*: Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.* **142**, 231-235, 2004.
21. Trachootham, D., *et al.*: Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discov.*, **8**: 579-591, 2009.
22. Halliwell, B.: Biochemistry of oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, **35**: 1147-1150, 2007.
23. Shie H: Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* **82**: 291-295, 1997.
24. I. Yamazaki, L. H. Piette: ESR spin-trapping studies on the reaction of Fe_2^+ ions with H_2O_2 -reactive species in oxygen toxicity in biology. *J. Biol. Chem.* **265**: 13589, 1990.
25. J. M. Tolmasoff, *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **77**: 277, 1980.
26. J. M. McCord & I. Fridovich: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049-6055, 1969. SOD
27. J. M. McCord: Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science*. **185**: 529-531, 1974.

28. I. Fridovich: The biology of oxygen radicals. *Science*, **201**: 875-880, 1978.
29. B. M. Babior, *et al.*: The particulate superoxide-forming system from human neutrophils. Properties of the system and further evidence supporting its participation in the respiratory burst. *J. Clin. Invest.* **58**: 989-996, 1976.
30. Fenton H.J.H.: "Oxidation of tartaric acid in presence of iron". *J. Chem. Soc.*, Trans. **65** (65): 899-911. 1894. doi:10.1039/ct8946500899
31. Fritz Harber, Joseph Weiss: Über die Katalyse des Hydroperoxydes. *Naturwissenschaften*, **20**: 948-950. 1932.
32. Y. Gabe,, A. Miyaji, M. Kohno., S.Moriwaki, T. Baba: Substantial evidence for the rhododendrol-induced generation of hydroxyl radicals that causes melanocyte cytotoxicity and induces chemical leukoderma. *Journal of Dermatological Science*, **91**: 311-316, 2018.
33. M. Tada, Y. Niwano, M. Kohno: Generation mechanism of deferoxamine radical by tyrosine-tyrosinase reaction, *Analytical Sciences*, **31**: 911-916, 2015.
34. H. P. Indo, H-C. Yen, I. Nakanishi, K. Matsumoto, M. Tamaru, Y. Nagano, H. Matsui, O. Gusev, R. Cornette, T. Okuda, Y. Minamiyama, H. Ichikawa, S. Suenaga, M. Oki, T. Sato, T. Ozawa, D. K. St. Clair, H. J. Majima: A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **56**: 1-7, 2015.
35. M. Ueno, M. Nyui, I. Nakanishi, K. Anzai, T. Ozawa, K. Matsumoto, Y. Uto: Scavenging of reactive oxygen species induced by hyperthermia in biological fluid. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **54**: 75-80, 2014.
36. H. P. Indo, O. Inanami, T. Koumura, S. Suenaga, H-C. Yen, S. Kakinuma, K. Matsumoto, I. Nakanishi, W. St. Clair, D. K. St. Clair, H. Matsui, R. Cornette, O. Gusev, T. Okuda, Y. Nakagawa, T. Ozawa, H. L. Majima: Roles of mitochondria-generated reactive oxygen species on X-ray-induced apoptosis in a human hepatocellular carcinoma cell line, HLE. *Free Radic. Res.*, **46**: 1029-1043, 2012.
37. K. Nakamura, T. Kanno, T. Mokudai, A. Iwasawa, Y. Niwano, M. Kohno: A novel analytical method to evaluate directly catalase activity of microorganisms and mammalian cells by ESR oximetry. *Free Radic Res*, **44**, 1036-1043, 2010.
38. M. Tada, E. Ichiishi, R. Saito, N. Emoto, Y. Niwano, M. Kohno: Myristic acid, a side chain of phorbol myristate acetate (PMA), can activate human polymorphonuclear leukocytes to produce oxygen radicals more potently than PMA. *J Clin Biochem Nutr*, **45**: 309-314, 2009.
39. M. Tada, M. Kohno, S. Kasai, Y. Niwano: Generation mechanism of radical species by tyrosine-tyrosinase reaction. *J Clin Biochem Nutr*, **47**: 162-166, 2010.
40. D. Kim, S. H. Cha, E. Sato, Y. Niwano, M. Kohno, Z. Jiang, Y. Yamasaki, Y. Matsuyama, K. Yamaguchi, T. Oda: Evaluation of the potential biological toxicities of aqueous extracts from red tide phytoplankton cultures in *in vitro* and *in vivo* systems. *J Toxicol Sci*, **35**: 591-599, 2010.
41. M. Kohno, E. Sato, N. Yaekashiwa, T. Mokudai, and Y. Niwano: Proposed mechanisms for HOOOH formation in two typical enzyme reactions responsible for superoxide anion production in biological systems. *Chem Lett*, **38**: 302-307, 2009.
42. E. Sato, T. Mokudai, Y. Niwano, M. Kamibayashi, M. Kohno: Existence of a new reactive intermediate oxygen species in hypoxanthine and xanthine oxidase reaction. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **56**: 1194-1197, 2008.
43. M. Kohno, M. Takeda, Y. Niwano, R. Saito, N. Emoto, M. Tada, T. Kanazawa, N. Ohuchi, R. Yamada: Early diagnosis of cancer by detecting the chemiluminescence of hematoporphyrins in peripheral blood lymphocytes. *Tohoku J Exp Med*, **216**: 47-52, 2008.
44. K. Saito, M. Takahashi, T. Ozawa, and M. Kohno: Measurements of superoxide anion generation from oral polymorphonuclear leukocyte using novel spin trap, 5-(diphenylphosphinoyl)-5-methyl-4, 5-dihydro-3H-pyrrole N-oxide(DPPMPO). *Free Rad Biol Med*, **43**: 179-179, 2007.
45. E. Sato, Y. Niwano, T. Mokudai, M. Kohno, Y. Matsuyama, D. Kim, T. Oda: A discrepancy in superoxide scavenging activity between the ESR-spin trapping method and the luminol chemiluminescence method. *Biosci Biotechnol Biochem*, **71**: 1505-1513, 2007.
46. I. Ueno, M. Kohno, K. Mitsuta, Y. Mizuta, S. Kanegasaki: Reevaluation of the spin-trapped adduct formed from 5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide during the respiratory burst in neutrophils. *J Biochem*, **105**: 905-910, 1989.

47. M. Nyui, I. Nakanishi, K. Anzai, T. Ozawa, K. Matsumoto: Reactivity of redox sensitive paramagnetic nitroxyl contrast agents with reactive oxygen. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **64**: 13-19, 2019.
48. I. Nakanishi, S. Yamashita, T. Shimokawa, M. Kamibayashi, E. Sekine-Suzuki, M. Ueno, Y. Ogawa, T. Ozawa, K. Matsumoto: *Org. Biomol. Chem.*, **16**: 1272-1276, 2018.
49. A. Miyaji, Y. Gabe, M. Kohno, Y. Inoue, T. Baba: Hydroxyl radical generation by dissociation of water molecules during 1.65MHz frequency ultrasound irradiation under aerobic conditions, *Biochem. Biophys. Res. Comm* **483**: 178-182, 2017.
50. A. Miyaji, Y. Gabe, M. Kohno, T. Baba: Generation of hydroxyl radicals and singlet oxygen during oxidation of rhododendrol and rhododendrol catechol, *J. Clin Biochem Nutr*, **60**: 86-92, 2017.
51. A. Miyaji, M. Kohno, Y. Inoue, T. Baba: Singlet oxygen generation during the oxidation of L-tyrosine and L-dopa with mushroom tyrosinase, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **471**: 450-453, 2016.
52. T. Takamatsu, K. Uehara, Y. Sasaki, H. Miyahara, Y. Matsumura, A. Iwasawa, N. Ito, T. Azuma, M. Kohno and A. Okino: Investigation of reactive species using various gas plasmas, *RSC Adv.*, **4**: 39901-39905, 2014.
53. K. Matsuo, Y. Takatsuji, M. Kohno, T. Kamachi, H. Nakada, T. Haruyama: Dispersed-phase Interfaces between mist water particles and oxygen plasma efficiently produce singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) and hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), *Electrochemistry* **83**: 721-724, 2015., Y. Matsumura, A. Iwasawa, T. Kobayashi, T. Kamachi, T. Ozawa, M. Kohno: Detection of high-frequency ultrasound-induced singlet oxygen by the ESR spin-trapping method. *Chem. Lett.* **42**: 1291-1293, 2013.
54. Y. Matsumura, A. Iwasawa, T. Kobayashi, T. Kamachi, T. Ozawa, M. Kohno: Detection of high-frequency ultrasound-induced singlet oxygen by the ESR spin-trapping method. *Chem. Lett.* **42**: 1291-1293, 2013.
55. Y. Matsumura, A. Iwasawa, T. Kobayashi, T. Kamachi, T. Ozawa, M. Kohno: The reactivity of α -oxoaldehyde with reactive oxygen species in diabetes complications. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **52**: 128-132, 2012.
56. K. Nakamura, K. Ishiyama, H. Ika, T. Kanno, K. Sasaki, Y. Niwano. Reevaluation of analytical methods for photogenerated singlet oxygen. *J. Clin. Biochem. Nutri.* **49**: 87-95, 2011.
57. H. Ikai, K. Nakamura, M. Shirato, T. Kanno, A. Iwasawa, K. Sasaki, Y. Niwano, M. Kohno: Photolysis of hydrogen peroxide, an effective disinfection system via hydroxyl radical formation. *Antimicrob Agents Chemother*, **54**: 5086-5091, 2010.
58. K. Matsumoto, A. Okajo, K. Nagata, W. G. DeGraff, M. Nyui, M. Ueno, I. Nakanishi, T. Ozawa, J. B. Mitchell, M. C. Krishna, H. Yamamoto, K. Endo, K. Anzai: Detection of free radical reactions in an aqueous sample induced by low linear-energy-transfer irradiation. *Biol. Pharm. Bull.*, **32**: 542-547, 2009.
59. M. Nakayama, K. Saito, E. Sato, K. Nakayama, H. Terawaki, S. Ito, M. Kohno: Radical generation by the non-enzymatic reaction of methylglyoxal and hydrogen peroxide. *Redox Rep*, **12**: 125-133, 2007.
60. K. Saito, M. Kohno: Application of electron spin resonance spin-trapping technique for evaluation of substrates and inhibitors of nitric oxide synthase. *Anal Biochem*, **349**: 16-24, 2006.
61. T. Ando, T. Yoshikawa, T. Tanigawa, M. Kohno, N. Yoshida, M. Kondo: Quantification of singlet oxygen from hematoporphyrin derivative by electron spin resonance. *Life Sci*, **61**: 1953-1959, 1997.
62. M. Hashimoto, Y. Nakai, M. Kohno, K. Tajima, K. Kanamori, N. Endo, K. Makino: DMPO spin trapping of superoxide anion in strong alkaline DMPO solution, *Chem. Lett.* **26**: 71-72, 1997.
63. M. Kohno, T. Masumizu, A. Mori: ESR demonstration of nitric oxide production from nitroglycerin and sodium nitrite in the blood of rats. *Free Radic Biol Med*, **18**: 451-457, 1995.
64. K. Yagi, N. Ishida, S. Komura, N. Ohishi, M. Kusai, M. Kohno: Generation of hydroxyl radical from linoleic acid hydroperoxide in the presence of epinephrine and iron. *Biochem Biophys Res Commun*, **183**: 945-951, 1992.
65. K. Matsumoto, Y. Ogawa, M. Kamibayashi, M. Nyui, I. Nakanishi, S. Suenaga, H. Ito, H. Matsui, T. Ozawa, H. P. Indo, H. J. Majima: Assessment of redox status in commercial bottled mineral water. *J. Clin. Nutr. Food. Sci.*, **1**, 29-34, 2018.
66. I. Nakanishi, K. Ohkubo, Y. Ogawa, K. Matsumoto, T. Ozawa, S. Fukuzumi: Aluminium ion-promoted radical-scavenging reaction of methylated hydroquinone derivatives. *Org. Biomol. Chem.*, **14**: 7956-7961, 2016.

67. T. Waki, S. Kobayashi, T. Ozawa, T. Kamada, I. Nakanishi: Effects of ionic radius of bio-related redox-inactive metal ions on the radical-scavenging activity of flavonoids evaluated by photometric titration. *Chem. Commun.*, **49**: 9842-9844, 2013.
68. H. P. Indo, I. Nakanishi, K. Ohkubo, H-C. Yen, M. Nyui, S. Manda, K. Matsumoto, K. Anzai, N. Ikota, H. Matsui, Y. Minamiyama, A. Nakajima, H. Ichikawa, S. Fukuzumi, T. Ozawa, C. Mukai, H. J. Majima: Comparison of *in vivo* and *in vitro* antioxidative parameters for eleven food factors. *RSC Adv.*, **3**: 4535-4538, 2013.
69. S. Takahashi, W. Piao, Y. Matsumura, T. Komatsu, T. Ueno, T. Terai, T. Kamachi, M. Kohno, T. Nagano, K. Hanaoka: *J. Am. Chem. Soc.*, **134**: 19588-19591, 2012.
70. K. Imai, I. Nakanishi, K. Anzai, T. Ozawa, N. Miyata, S. Urano, H. Okuda, A. Nakamura, K. Fukuhara: Synthesis and enhanced radical scavenging activity of a conformationally constrained epigallocatechin analogue. *Chem. Lett.*, **40**: 1417-1419, 2011.
71. K. Fukuhara, I. Nakanishi, K. Ohkubo, Y. Obara, A. Tada, K. Imai, A. Ohno, A. Nakamura, T. Ozawa, S. Urano, S. Saito, S. Fukuzumi, K. Anzai, N. Miyata, H. Okuda: Intramolecular base-accelerated radical-scavenging reaction of a planar catechin derivative bearing a lysine moiety. *Chem. Commun.*, 6180-6182, 2009.
72. K. Fukuhara, I. Nakanishi, A. Matsuoka, T. Matsumura, S. Honda, M. Hayashi, T. Ozawa, N. Miyata, S. Saito, N. Ikota, H. Okuda: *Chem. Res. Toxicol.*, **21**: 282-287, 2008.
73. S. Manda, I. Nakanishi, K. Ohkubo, Y. Uto, T. Kawashima, K. Fukuhara, H. Okuda, H. Hori, T. Ozawa, N. Ikota, S. Fukuzumi, K. Anzai: Enhanced radical-scavenging activity of naturally-oriented artemillin C derivatives. *Chem. Commun.*, 626-628, 2008.
74. I. Nakanishi, T. Shimada, K. Ohkubo, S. Manda, T. Shimizu, S. Urano, H. Ohkubo, N. Miyata, T. Ozawa, K. Anzai, S. Fukuzumi, N. Ikota, K. Fukuhara: Involvement of electron transfer in the radical-scavenging reaction of resveratrol. *Chem. Lett.*, **36**: 1276-1277, 2007.
75. W. Hakamata, I. Nakanishi, Y. Masuda, T. Shimizu, T. Ozawa, S. M. Hecht, M. Tanno, S. Sueyoshi, N. Miyata, H. Okuda, S. Fukuzumi, N. Ikota, K. Fukuhara: Planar catechin analogues with alkyl side chains, a potent antioxidant and an α -glucosidase inhibitor. *Org. Biomol. Chem.*, **3**: 3263-3265, 2005.
76. C. Nishizawa, K. Takeshita, J. Ueda, I. Nakanishi, K. T. Suzuki, T. Ozawa: Reaction of para-hydroxybenzoic acid esters with singlet oxygen in the presence of glutathione produces glutathione conjugates of hydroquinone, potent inducers of oxidative stress: *Free Radic. Res.*, **40**: 233-240, 2006.
77. I. Nakanishi, K. Ohkubo, K. Miyazaki, W. Hakamata, S. Urano, T. Ozawa, H. Okuda, S. Fukuzumi, N. Ikota, K. Fukuhara: A planar catechin analogue having a more negative oxidation potential than (+)-catechin as an electron-transfer antioxidant against a peroxyl radical. *Chem. Res. Toxicol.*, **17**: 26-31, 2004.
78. K. Takeshita, K. Fujii, K. Anzai, T. Ozawa: *In vivo* monitoring of hydroxyl radical generation caused by X-ray irradiation of rats using the spin trapping/epr technique. *Free Radic. Biol. Med.*, **36**: 1134-1143, 2004.
79. K. Saito, K. Takeshita, K. Anzai, T. Ozawa: Pharmacokinetic study of acyl-protected hydroxyamine probe, 1-acetoxy-3-carbamoyl-2,2,5,5-tetra-methylprolidine, for *in vivo* measurements of reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med.*, **36**: 517-525, 2004.
80. I. Nakanishi, Y. Uto, K. Ohkubo, K. Miyazaki, H. Yakumaru, S. Urano, H. Okuda, J. Ueda, T. Ozawa, K. Fukuhara, S. Fukuzumi, H. Nagasawa, H. Hori, N. Ikota: Efficient radical scavenging ability of artemillin C, a major component of Brazilian propolis, and the mechanism. *Org. Biomol. Chem.*, **1**: 1452-1454, 2003.
81. I. Nakanishi, K. Miyazaki, T. Shimada, Y. Iizuka, K. Inami, M. Mochizuki, S. Urano, H. Okuda, T. Ozawa, S. Fukuzumi, N. Ikota, K. Fukuhara: Kinetic study of the electron-transfer oxidation of the phenolate anion of a vitamin E model by molecular oxygen generating superoxide anion in an aprotic medium. *Org. Biomol. Chem.*, **1**: 4085-4088, 2003.
82. T. Fujii, T. Yoshikawa, Y. Naito, M. Kondo, M. Kohno: Peroxyl radical-scavenging activity of plasma determined by electron paramagnetic resonance, *J Clin Biochem Nutr.*, **27**: 1103-112, 1999.
83. Y. Noda, K. Anzai, Y. Ihara, M. Kibata, T. Hayabara, S. Katayama, H. Konishi, K. Miura, M. Kohno, M. Kawai, I. Yokoi, A. Mori: Free radicals in the cerebrospinal fluid are associated with neurological disorders including

- mitochondrial encephalomyopathy. *Biochem Mol Biol Int*, **42**: 937-947, 1997.
84. T. Akaike, M. Yoshida, Y. Miyamoto, K. Sato, M. Kohno, K. Sasamoto, K. Miyazaki, S. Ueda, H. Maeda: Antagonistic action of imidazolineoxyl N-oxides against endothelium-derived relaxing factor/.NO through a radical reaction. *Biochemistry*, **32**: 827-832, 1993.
85. M. Hiramatsu, M. Kohno, R. Edamatsu, K. Mitsuta, A. Mori: Increased superoxide dismutase activity in aged human cerebrospinal fluid and rat brain determined by electron spin resonance spectrometry using the spin trap method. *J. Neurochem*, **58**: 1160-1164, 1992.
86. K. Mitsuta, Y. Mizuta, M. Kohno, H. Hiramatsu, A. Mori: The application of esr spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. *Bull Chem Soc Jpn*, **63**: 187-191, 1990.
87. T. Takahasi, A. Okiura, M. Kohno: Phenylpropanoid composition in fig (*Ficus caria* L.) Leaves, *J. Natural Medicine* **71**: 770-775, 2017.
88. M. Tada, M. Kohno, Y. Niwano: Scavenging or quenching effect of melanin on superoxide anion and singlet oxygen. *J Clin Biochem Nutr*, **46**: 224-228, 2010.
89. K. Saito, M. Kohno, F. Yosizaki, and Y. Niwano: Antioxidant properties of herbal extracts selected from screening for potent scavenging activity against superoxide anions, *J Sci Food Agric*, **88**: 2707-2712, 2008.
90. K. Saito, M. Kohno, F. Yoshizaki, Y. Niwano: Extensive screening for edible herbal extracts with potent scavenging activity against superoxide anions. *Plant Foods Hum Nutr*, **63**: 65-70, 2008.
91. E. Sato, M. Kohno, T. Nakashima, Y. Niwano: Ciclopirox olamine directly scavenges hydroxyl radical. *Int J Dermatol*, **47**: 15-18, 2008.
92. E. Sato, Y. Niwano, T. Mokudai, M. Kohno, Y. Matsuyama, D. Kim, T. Oda: A discrepancy in superoxide scavenging activity between the ESR-spin trapping method and the luminol chemiluminescence method. *Biosci Biotechnol Biochem*, **71**: 1505-1513, 2007.
93. H. Kabuto, M. Tada, M. Kohno: Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biol Pharm Bull*, **30**: 423-427, 2007.
94. N. M. Sachindra, E. Sato, H. Maeda, M. Hosokawa, Y. Niwano, M. Kohno, K. Miyashita: Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *J Agric Food Chem*, **55**: 8516-8522, 2007.
95. E. Sato, M. Kato, M. Kohno, Y. Niwano: Clindamycin phosphate scavenges hydroxyl radical. *Int J Dermatol*, **46**: 1185-1187, 2007.
96. H. Kabuto, M. Nishizawa, M. Tada, C. Higashio, T. Shishibori, M. Kohno: Zingerone [4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression in mouse striatum and increases superoxide scavenging activity in serum. *Neurochem Res*, **30**: 325-332, 2005.
97. T. Unno, I. Sakane, T. Masumizu, M. Kohno, T. Kakuta: Antioxidative activity of water ttracts of *Lagerstroemia speciosa* leaves. *Biosci Biotech Biochem*, **61**: 1772-1774, 1997.
98. S. Nishibayashi, M. Asanuma, M. Kohno, M. Gomez-Vargas, N. Ogawa: Scavenging effects of dopamine agonists on nitric oxide radicals. *J Neurochem*, **67**: 2208-2211, 1996.
99. N. Ogawa, K. Tanaka, M. Asanuma, M. Kawai, T. Masumizu, M. Kohno, A. Mori: Bromocriptine protects mice against 6-hydroxydopamine and scavenges hydroxyl free radicals *in vitro*. *Brain Res*, **657**: 207-213, 1994.
100. T. Akaike, K. Sato, S. Ijiri, Y. Miyamoto, M. Kohno, M. Ando, H. Maeda: Bactericidal activity of alkyl peroxy radicals generated by heme-iron-catalyzed decomposition of organic peroxides. *Arch Biochem Biophys*, **294**: 55-63, 1992.
101. X. Wang, J. Liu, I. Yokoi, M. Kohno, A. Mori: Direct detection of circulating free radicals in the rat using electron spin resonance spectrometry. *Free Radic Biol Med*, **12**: 121-126, 1992.
102. K. Takagi, H. Kanemitsu, N. Tomukai, H. Oka, A. Tamura, M. Kohno, K. Mitsuda, S. Yoshida, K. Sano: Changes of superoxide dismutase activity and ascorbic acid in focal cerebral ischaemia in rats. *Neurol Res*, **14**: 26-30, 1992.
103. A. Mori, R. Edamatsu, M. Kohno, S. Ohmori: A new hydroxyl radical scavenger: EPC-K1. *Neurosciences*, **15**: 371-376, 1989.

104. I. Ueno, M. Kohno, K. Mitsuta, Y. Mizuta, S. Kanegasaki: Reevaluation of the spin-trapped adduct formed from 5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide during the respiratory burst in neutrophils. *J Biochem*, **105**: 905-910, 1989.
105. H. Ueta, M. Sugiyama, A. Kagiya, G. Shin, T. Shoji, S. Mimori, R. Ggura, M. Kohno: Studies on the quantitative and qualitative characterization of superoxide anion using spin trapping method by electron spin resonance. *J Clin Biochem Nutr*, **51**: 1032-1038, 1988.
106. T. Kobayashi, T. Yoshida, T. Fujisawa, Y. Matsumura, T. Ozawa, H. Yanai, A. Iwasawa, T. Kamachi, K. Fujiwara, M. Kohno, N. Tanaka: A metabolomics-based approach for predicting stages of chronic kidney disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **445**: 412-416, 2014.
107. T. Kobayashi, Y. Matsumura, T. Ozawa, H. Yanai, A. Iwasawa, T. Kamachi, K. Fujiwara, N. Tanaka, M. Kohno: Exploration of novel predictive markers in rat plasma of the early stages of chronic renal failure. *Anal. Bioanal. Chem.* **406**: 1365-1376, 2014.
108. E. Sato, M. Kohno, M. Yamamoto, T. Fujisawa, K. Fujiwara, N. Tanaka: Metabolomic analysis of human plasma from haemodialysis patients. *European J. Clinical Investigation*, **11**: 241-255, 2011.
109. F. Beppu, Y. Niwano, E. Sato, M. Kohno, T. Tsukui, M. Hosokawa, K. Miyashita : *In vitro* and *in vivo* evaluation of mutagenicity of fucoxanthin (FX) and its metabolite fucoxanthinol (FXOH). *J Toxicol Sci*, **34**: 693-698, 2009.
110. K. Nakayama, M. Nakayama, H. Terawaki, Y. Murata, T. Sato, M. Kohno, S. Ito: Carbonated soft drinks and carbonyl stress burden. *J Toxicol Sci*, **34**: 699-702, 2009.
111. K. Nakayama, M. Nakayama, M. Iwabuchi, H. Terawaki, T. Sato, M. Kohno, S. Ito: Plasma alpha-oxoaldehyde levels in diabetic and nondiabetic chronic kidney disease patients. *Am J Nephrol*, **28**: 871-878, 2008.

連絡先：小澤 俊彦 (Toshihiko Ozawa)
日本薬科大学 客員教授
放射線医学総合研究所 名誉研究員
e-mail: ozawa@rugbygoods.com

きのこ菌糸体の機能性研究と代替医療への応用

Application for alternative medicine in functional research on cultured mycelia of the higher *Basidiomycetes* mushrooms

中村 友幸 (NAKAMURA Tomoyuki)*

*NPO 法人 応用きのこ総合研究所

Key Words : きのこ 培養菌糸体 抗酸化 代替医療 インフルエンザウイルス アジュバント効果
脳梗塞 iPS 細胞

Application for alternative medicine in functional research on cultured mycelia of the higher *Basidiomycetes* mushrooms

Tomoyuki Nakamura*

*Non-Profit Organization Applied Mushroom General Institute

Key Words: Words: Mushroom, Cultured mycelia, Anti-oxidant, Alternative medicine, Influenza virus, Adjuvant effect, Cerebral infarction, iPS cells

Abstract

We investigated the anti-oxidant activity of cultured mycelia components in various mushroom and discovered that *Phellinus linteus* shows the highest activity. Therefore, we focused on *P. linteus* and investigated application for alternative medicine in anti-oxidant effect. *P. linteus*, a well-known traditional medicinal mushroom, has been shown to exhibit potent biological activity. Recently, functional foods using cultured mycelia of *P. linteus* have been widely produced. This review on *P. linteus* presents current uniform and stabilization technology using genetic analysis, establishment of a culture technique, and various function properties of its mycelia. In particular, functional research on various assays is presented that examine anti-oxidant, and anti-allergy, including some novel findings suggesting that the cultured mycelia of *P. linteus* and its effective components have the potential to be applied to future therapies of various diseases.

*To whom correspondence should be addressed.

Non-Profit Organization Applied Mushroom General Institute,
592 Oka, Yatsushiro, Fufuki, Yamanashi, 406-0834, Japan
E-mail: n-tomo@ace.ocn.ne.jp
(URL; <http://kinoko-1.jp/>)

はじめに

近年、我々を取り巻く社会環境は疾病構造の変化、ストレス社会、さらに高齢化社会の進行などの大きな変化が見られる。そこで重要となるのが健康の維持増進に必要となる健康食品などがあげられる。そこで注目されている素材としてきのこがあり、きのこは植物と同様にカロリーなどの栄養面での働き（一次機能）、嗜好面での働き（二次機能）のほかに、人間の生理機能を活性化させる働き（三次機能）をもっており、このような三次機能を効率よく発現できるように設計した食品を「機能性食品」としており、本稿で紹介するきのこも重要な「機能性食品素材」として期待されている。特に、昨今ではこのきのこに含まれる成分の機能は科学技術の進歩から様々なアッセイ方法が確立され、また化学構造解析の進歩により急速に活性成分が発見され、きのこ類は人体にとって有用な未知なる成分が存在する可能性が示されてきている¹⁻¹⁰⁾。ここではきのこの生活環で大きく二つに分けることができる菌糸体と子実体（キノコ）のなかで安定的に均一な管理が可能である菌糸体を用いて試験を進めた。

まず予防医学の観点から抗酸化活性に注目した上で生体系における老化や発ガンの原因となるスーパーオキシドアニオンラジカルの消去活性試験を食用きのこ、薬用きのこを含めた12種類のきのこ菌糸体を用いて調査した。さらに抗酸化活性試験の結果から、最も高い活性を示した薬用きのこのメシマコブにおける代替医療への利用価値を調査した。代替医療への展開を目指した各種機能性研究としては抗がん効果を除いた機能性研究に絞って、抗アレルギー試験としてはNC/Nga./miceを用いた動物実験、また抗アレルギー試験のひとつの指標としてのヒスタミン遊離抑制試験を行い、活性物質の単離・同定を行った。最新の機能性研究としては「インフルエンザワクチンに対するアジュバント作用」および「脳血管障害（脳梗塞）の改善作用：実験的局所脳虚血巣縮小効果」、さらには将来

に向けた医療分野での活用として「iPS細胞の樹立効率改善作用」に関する成果をまとめることができた。今回、各種きのこ菌糸体の中から抗酸化活性が最も高いきのこであるメシマコブ菌糸体を研究素材として機能性研究を進めるにあたり、最先端な研究手法を用いることで抗酸化作用と代替医療への一つのつながりを示すことができたので紹介する。

1. きのこ菌糸体の培養サンプルの調製

きのこはマツタケ同様に人工栽培が困難な種が多々あり、それらのきのこ由来成分を生産するためには遺伝子解析技術による菌種の同定に基づいた各種きのこ菌株を活用した大型タンクによる液体培養法が確立されている¹¹⁻¹³⁾。特に、食用きのこ、薬用きのこの培養においては炭素源、窒素源の比率であるC/N比が重要になる。主に炭素源としてはグルコースを用い、窒素源には有機態系のイーストエキスとポリペプトンの比率を考慮することが重要であり、今回試験に供試した12種類のきのこ培養にはTable 1に示した培地組成を用いて培養を行った。各きのこ種により培養速度は異なるものの、供試した12種（ヒメマツタケ、マイタケ、マンネンタケ、ヤマブシタケ、シイタケ、ハタケシメジ、ホンシメジ、カンゾウタケ、ヌメリスギタケモドキ、エリンギ、ナメコ、メシマコブ）の各種きのこ菌糸を培養温度23℃の環境下で培養し、タンク一面に菌糸が蔓延した状態になった培養45日終了後にきのこ菌糸体をサンプル調製した。

Table 1 Composition of liquid medium.

Glucose	40 g
Polypeptone	3 g
Yeast extract	3 g
NaH ₂ PO ₄	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
Distilled water	1000 mL
pH	5.5

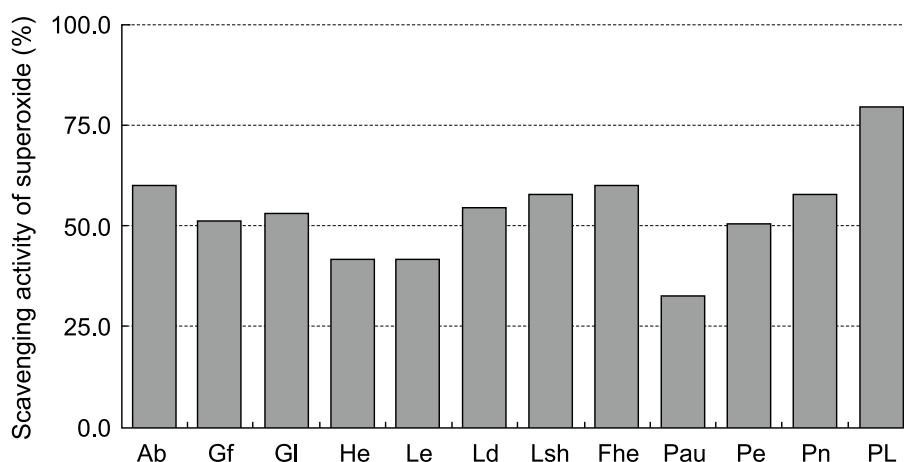


Fig. 1 Superoxide anion radical scavenging activity of cultured mycelia of various mushrooms.

Ab: *Agaricus blazei*, Gf: *Grifola frondosa*, Gl: *Ganoderma lucidum*, He: *Hericium erinaceum*, Le: *Lentinula edodes*, Ld: *Lyophyllum decastes*, Lsh: *Lyophyllum shimeji*, Fhe: *Fistulina hepatica*, Pau: *Pholiota aurivella*, Pe: *Pleurotus eryngii*, Pn: *Pholiota nameko*, PL: *Phellinus linteus*

2. きのこと菌糸体の抗酸化作用と活性成分の単離

Hypoxanthine, Xanthine oxidase 系を用い、トラップ剤 DMPO (5, 5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) でトラップしたスーパーオキシドアニオンラジカル ($O_2^{\cdot-}$) を ESR (JES-FR100) 装置により測定し、各成分を添加することでその消去活性（以降スーパーオキシド消去活性）を調査した。まず初めに、12 種のきのこ菌糸体培養成分を用いて調査した結果、メシマコブ (PL-08 菌株) が最も高い活性を示した^{14, 15)} (Fig. 1)。さらに、メシマコブ菌糸体成分の活性画分を探索するため、各種分画操作を行い、EtOAc 画分に活性が認められた。さらに細分画を行ったところ、極性が強い画分に高い活性が認められた。この活性画分を細分画した結果、Caffeic acid (Fig. 2) を単離することに成功した^{16, 17)}。この成分のスーパーオキシ

ド消去活性は IC_{50} : 3.05 μ g/mL (16.9 μ M) であり、抗酸化物質として知られているビタミン C の約 2 倍の消去活性を有することが示唆された。高等菌類であるきのこ由来菌糸体から Caffeic acid を発見したことは初めての成果である。この Caffeic acid は、メシマコブにおける薬理作用の一役を担っていると考えられた。

また、補足であるが活性酸素種としてスーパーオキシドと同様に注目されているヒドロキシルラジカル ($\cdot OH$) の消去活性に関して、上記 12 種のきのこ菌糸体成分における ESR 装置を用いた消去活性を調査した結果、メシマコブは最も高い値を示したヤマブシタケと同等の活性を示した。これらの結果から、メシマコブ菌糸体成分中には様々な活性酸素種に対して抗酸化作用を示す成分が多く含まれていることが考えられた。

以上の結果から、メシマコブ菌糸体成分は約 9 割以上の疾病の原因として報告されている活性酸素種の害から生体を防御するための抗酸化成分を豊富に含有し、メシマコブ菌糸体成分には各種の疾病に対する予防・改善効果があることを考慮した上で以降の機能性研究を試みた。

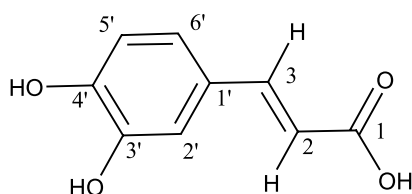


Fig. 2 Structure of caffeic acid

3. 高い抗酸化作用を示したメシマコブの機能性研究

3-1. メシマコブとは

メシマコブ [*Phellinus linteus* (Berk. et Curt.) Teng] (Fig. 3) はタバコウロコタケ科キノコブタケ属のきのこである。桑の立木の心材腐朽菌であり、長崎県男女群島の女島（めしま）に自生することから名づけられ、漢方では桑黄とよばれて薬用に供せられた。日本ではこのメシマコブの薬理効果が約 40 年前に試験され、サルノコシカケ科などを含めたきのこのなかで当時最も高い抗腫瘍効果が報告された¹⁸⁾。昨今では日本国内で養蚕が衰退して桑園が減少したので、国内では子実体の採取は困難になっている。そのため、人工的にメシマコブの子



Fig. 3. Fruit body of *Phellinus linteus* on a 40-year-old *Morus bombycis*.

実体を栽培しようとする試みが活発に展開されている^{19, 20)}。しかし、メシマコブは多年生であり、大型の子実体を得るまでに数年を要することから、大量栽培が難しい。そこで、子実体から組織を分離し大型タンクを用いた菌糸体培養の研究が活発に行われるようになってきた¹¹⁾。特に韓国においては国家プロジェクトとしてメシマコブの培養菌糸体の研究が進められ、メシマコブ菌糸体成分を用いた抗癌剤がすでに認可されている。日本国内でもメシマコブはアガリクスと同様に高い抗腫瘍活性²¹⁾を示すきのことして注目されているが、前述した通り天然のメシマコブ子実体を採取することは困難であり、国内でも大型タンクを用いた菌糸体培養 (Fig. 4) が積極的に行われている。

3-1. メシマコブの抗アレルギー作用

I 型アレルギー抑制効果に関して、アトピー性皮膚炎を自然発症する NC/Nga./mice を用いて試験を行った。被験材料としては、メシマコブ菌糸体熱水抽出物と培養濾液の 2 種類を用いた。メシマコブ菌糸体由来成分を経口投与することで血中 IgE 値の産生抑制 (Fig. 5) および皮膚アレルギー症状の抑制作用 (Fig. 6) が認められた²²⁻²⁶⁾。この傾向はメシマコブ菌糸体熱水抽出成分投与群で最も著明に認められた。コントロール区では、血中 IgE 値が急激に上昇する傾向を示し、メシマコブ菌糸体熱水抽出区

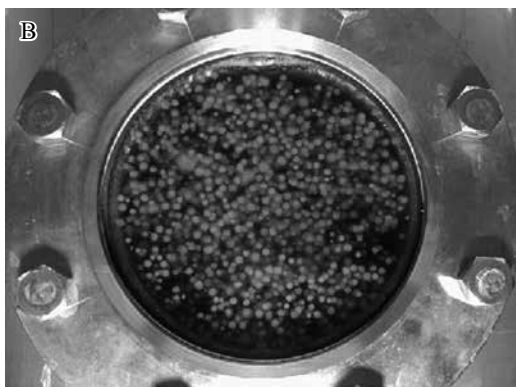


Fig. 4 Aeration liquid culture apparatus and cultured mycelia of *Phellinus linteus*.

A: A 1-t tank was used as the culture apparatus (1 t × 20 unit; 5 t × 10 unit). B: Cultured mycelia of *P. linteus*.

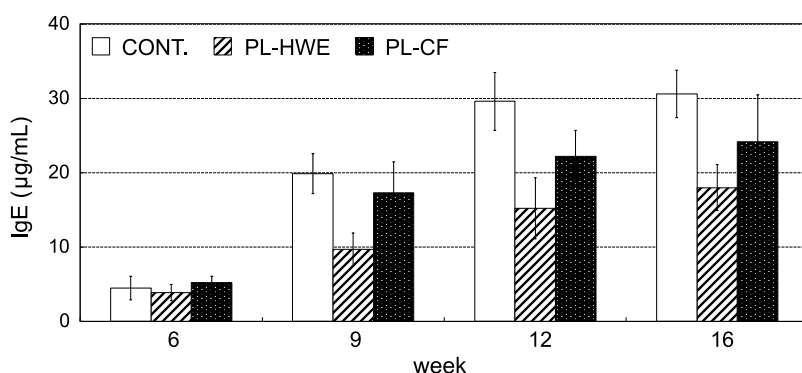


Fig. 5 Time-course changes of total serum IgE from NC mice administered *Phellinus linteus* mycelial components. CONTR.: control, PL-HWE: hot water extract of *P.linteus mycelia*, PL-CF: culture filtrate of *P.linteus*

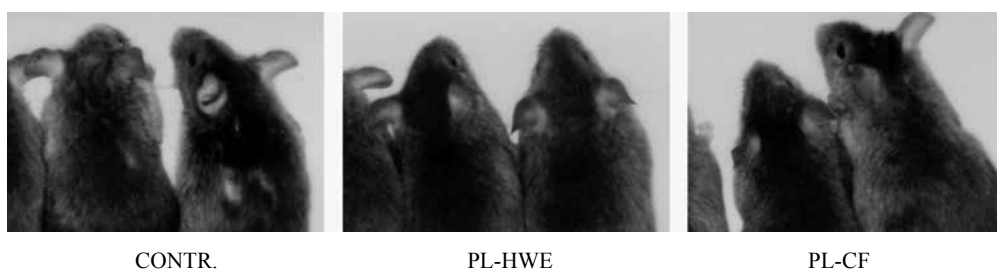


Fig. 6 Condition of back hair and skin of mice at 11 weeks following administration of *Phellinus linteus* mycelial components. CONTR., PL-HWE and PL-CF were as described in Fig. 5

においても血中 IgE 値の上昇傾向は観察されていた。このことは、急激な血中 IgE 値の上昇は皮膚炎症状を誘発する可能性があり、緩やかに血中 IgE 値が上昇することで皮膚炎症状の発現を抑制したと考えられた。

次に、メシマコブ菌糸体成分中における活性成分の単離・同定を試みるために、ラット腹腔内由来マスト細胞を用いたヒスタミン遊離抑制作用に関する調査を行った。まず、前述の動物実験においてメシマコブ菌糸体の熱水抽出成分における有用性が示されたことに着目し、分画サンプルの調製を行った。メシマコブ菌糸体の熱水抽出成分をアルコール画分と水画分に分けて試験を行った結果、アルコール画分において活性が認められた。さらに、液体

クロマトグラフィを用いて分画を行った。結果としては、ヌクレオシドのアデノシンと *N*-hydroxy-*N*-methyl-adenosine を単離・同定することに成功した²⁷⁻³⁰⁾ (Fig. 7)。これら成分のヒスタミン遊離抑制率（添加濃度 5μg/mL）はそれぞれ 30%, 27%であった。また、市販のインターナル試薬と比較した結果、アデノシンおよび *N*-hydroxy-*N*-methyl-adenosine はインター

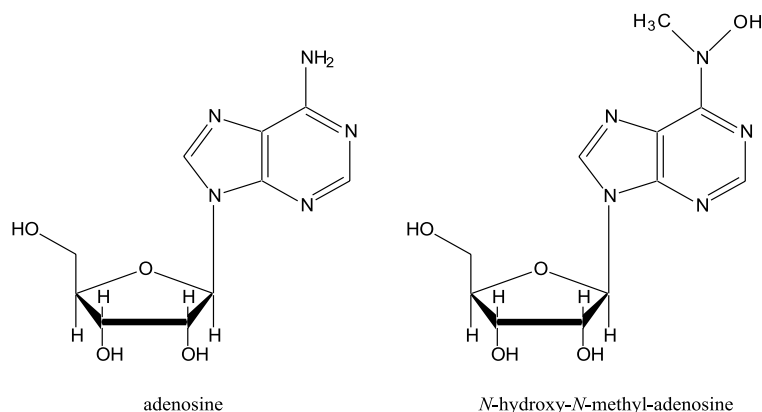


Fig. 7. Structures of adenosine and *N*-hydroxy-*N*-methyl-adenosine.

ルを上回る活性を示した。

このヒスタミン遊離抑制試験は、前述の動物実験における血中 IgE 値の抑制効果に対する直接的な関連性はないと思われるが、アレルギー症状の末端で誘発される炎症（痒み等）に対しての抑制効果を示す可能性を示唆する結果であった。また、アトピー性皮膚炎を自然発症する NC/Nga./mice を用いた試験では、メシマコブ菌糸体成分において血中 IgE 値を抑制する作用が認められた。これらの結果から、メシマコブ菌糸体成分は生体内の血中 IgE 値の抑制および強力なヒスタミン遊離抑制のダブル抑制効果からアレルギーに対し有効性を示すことが考えられた。今後、国民病として拡大が予想されるアレルギー予防に対する一つの手段として用いることができると考えている。

3-2. メシマコブのインフルエンザワクチンに対するアジュバント作用（経鼻投与）

日本で代表的な 12 種の食用および薬用きのこの培養菌糸体成分を用い、ウイルスのワクチンに対するアジュバント作用を調査した。今回の研究では、今後注目される可能性が高い新規なワクチン投与方法：経鼻投与を用いた研究成果を報告する。ウイルス感染させたモデル動物を用いた試験結果では、メシマコブ、シイタケ、マイタケの培養菌糸体に活性が認められた。特に、メシマコブの培養菌糸体において、最も高いアジュバント作用が確認された。シイタケ、マイタケでは、ワクチン単独投与に比べウイルス量の減少は認められたが、完全にウイルスは消失されなかった。それに対し、メシマコブの培養菌糸体は、分泌型 IgA の産生量が高まり、ウイルス感染したマウス 5 匹中の 4 匹でウイルスが完全に消失した。

特に注目された結果は、同一のメシマコブ菌株（PL-08 菌株）を用いて、3 種類の異なる培養条件で獲得した培養菌糸体をそれぞれ試験したところ、培養条件の違いにより、活性が大きく異なることを確認した。今回、最適な条件で培養したメシマコブの菌糸体成分は、二本鎖

RNA（Poly I:C）と同等の IFN- γ の産生が高まったことで有効性が示唆された^{31, 32)}。今後、地球温暖化の影響から、今回の鳥インフルエンザを含めた様々な感染症が出現することが予測される。その中で、重要な点はワクチンなどを利用した予防医療であると考えられる。今回の試験結果から判明したメシマコブ菌糸体のワクチンに対するアジュバント作用は自然免疫を高めることで感染症予防に有効であり、今後注目される機能であると考えている。

3-3. メシマコブの脳血管障害（脳梗塞）の改善作用：実験的局所脳虚血巣縮小効果

我が国では食生活の欧米化をはじめとするライフスタイルの変化によって、脂質異常症、高血圧、糖尿病、肥満など、いわゆる生活習慣病の罹患率や予備群が急激に上昇している。最近、これら生活習慣病の重症度が小さくとも集積することにより動脈硬化が相乗的に発症しやすくなることが明らかとなった。動脈硬化は、我が国の 3 大死因の二つを占める心疾患（なかでも心筋梗塞や狭心症などの虚血性心疾患）、脳血管疾患（なかでもアテローム血栓性脳梗塞）の主要な基礎疾患である。そこで、日常容易に摂取しうる食品やそれらの成分に生活習慣病、ひいては動脈硬化予防につながる有効物質が存在すれば、食生活により循環器系疾患の予防につながる可能性が高いと考えられる。特に、きのこおよび培養菌糸体の有効物質は食経験があるが故に副作用も低いと考えられる。

そこで、安定的に供給可能なメシマコブの培養成分を用いて、各種試験を東京女子医科大学脳神経センター（臨床医）と共同で研究を進め、疾患を未然に防ぐ点、また発症後の早期改善を高める作用を有するかどうか調査を行った。特に、脳梗塞ではフリーラジカルにより神経障害が悪化するため、脳梗塞に抗酸化治療が有効であることは以前から指摘されている。そこで、ラットの永久脳局所虚血モデルでメシマコブの培養抽出液を投与し、虚血巣縮小効果が得られるかを評価した。ここでは興味深い結果が観察

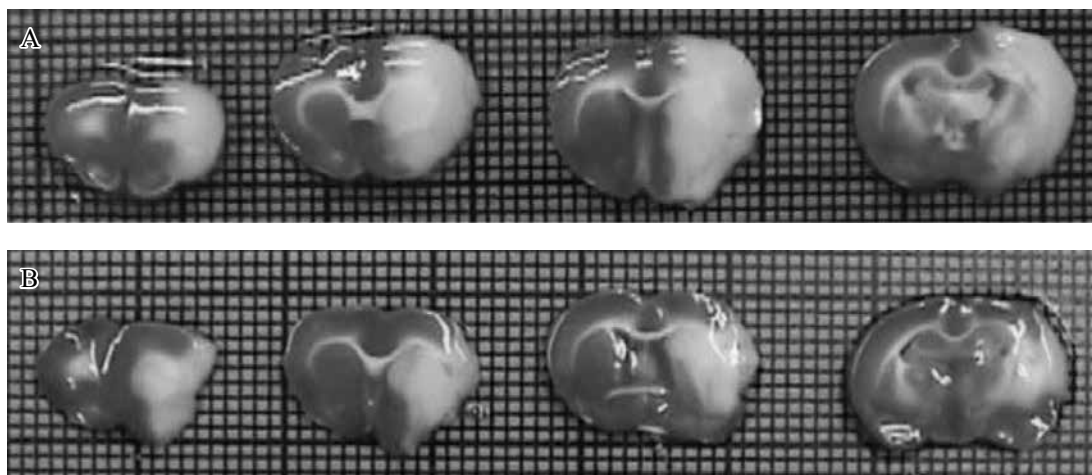


Fig. 8 Representative 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride-stained brain sections following right proximal MCA occlusion in the control group (A; Control 3) and *Phellinus linteus* culture filtrate-treated group (B; Group 5)

Infarct volumes in the *P. linteus*-treated group are smaller than those in control group. Coronal sections were obtained from locations +4.5, +2.5, +0.5 and -1.5mm relative to the bregma in each group.

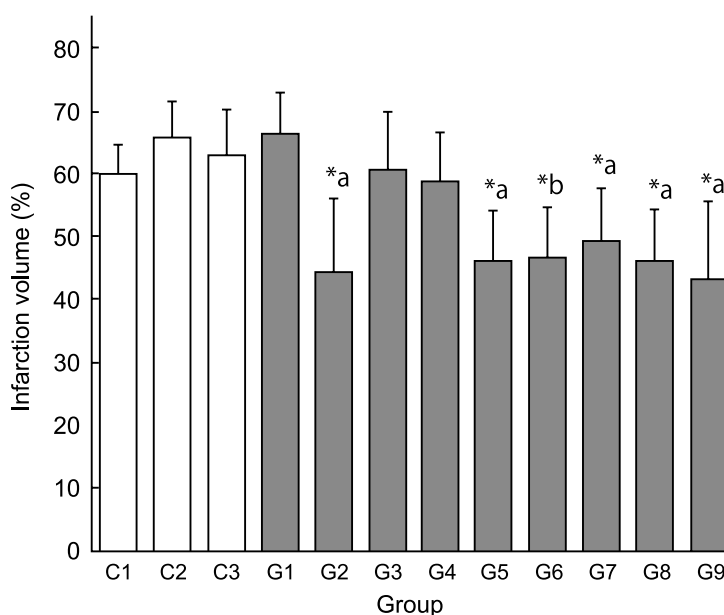


Fig. 9 Effect of *Phellinus linteus* culture filtrate administration on infarct volume in mouse cortex. Infarct volumes (%), presented as means $\pm$ SD, were calculated by the 'indirect method'. C1-3 are control groups 1 through 3 and G1-9 are *P. linteus*-treated groups 1 through 9. See Methods for the description of each group. *a: statistically significant differences for C3 versus G2, G5, and G7-9. *b: statistically significant differences for C2 versus G6.

Group 1: 1.5 mL of 20% culture filtrate at 60 min before ischemic onset (n=5), Group 2: 2.5 mL of 20% culture filtrate at 60 min before ischemic onset (n=5), Group 3: 2.5 mL of 4% culture filtrate at 30 min before ischemic onset (n=5), Group 4: 1.5 mL of 20% culture filtrate at 30 min before ischemic onset (n=7), Group 5: 2.5 mL of 20% culture filtrate at 30 min before ischemic onset (n=7), Group 6: 1.5 mL of 20% culture filtrate at 30 min after ischemic onset (n=7), Group 7: 2.5 mL of fraction with MW<12,000 at 30 min before ischemic onset (n=6), Group 8: 2.5 mL of fraction with MW>12,000 at 30 min before ischemic onset (n=6), Group 9: 2.5 mL of glycoprotein extract at 30 min before ischemic onset (n=8).

されたので方法も含め紹介する。

【方法】

8週齢雄 S-D ラットの右中大脳動脈を閉塞し梗塞病変を作成した³³⁻³⁵⁾。濃度の異なるメシマコブの培養抽出液を、梗塞作成前後に腹腔内投与した。メカニズム検索目的にて高分子量培養液と低分子量培養液、糖タンパクのみを抽出した培養液も別途投与した。虚血巣は24時間後に2,3,5-TTCで染色³⁶⁾し、画像解析ソフトを用いてcortexおよびcaudoputamenで計測³⁷⁾した。分散分析後のTukey-Kramer testで統計処理を行った。

【結果・考察】

虚血巣作成前投与群、後投与群ともにcortexの虚血巣は有意差をもって縮小し、その効果は容量依存性であった。虚血後投与群の方が有意差を持って虚血巣が縮小した³⁸⁾ (Fig. 8)。高分子量投与群では含有成分量が少ないにもかかわらず低分量群と同程度のcortexの梗塞縮小を認めた³⁹⁾ (Fig. 9)。糖タンパク投与群でも、有意差をもってcortexの梗塞縮小が認められた。高分子量分画には強い抗酸化作用がないと報告されており、抗酸化作用以外の規序で脳保護作用を発揮した可能性や、高分子量物質が生体内の免疫系などに作用し抗酸化作用を発揮した可能性などが示唆される。また、後療法でも治療効果時有意な脳保護作用を認めたことから、治療効果時間の範囲が広い治療薬になる可能性が示唆される。また、今後の再生医療に向けても重要な素材になることが可能であると考えている。

3-4. 新たな医療応用を目指したiPS細胞の樹立効率改善作用

きのか菌糸体成分には未知なる可能性を秘めていると考え、多くの研究機関と共同研究を進めている。特に、京都大学iPS細胞研究所との共同研究ではきのか菌糸体を含めた天然物由来成分を用いたiPS細胞の生存増強作

用および樹立効率改善作用の試験を行っている。研究結果から、きのか菌糸体ではメシマコブ菌糸体抽出成分でiPS細胞の生存増強作用および樹立効率改善作用が確認されている。特に、体細胞の核初期化工程において、メシマコブ菌糸体抽出成分を培地へ添加することで、ヒトiPS細胞の樹立効率が顕著に上昇することを見いだした。また、メシマコブ菌糸体抽出成分を培地へ添加することにより、bFGF (basic fibroblast growth factor) 非存在下でもヒトiPS細胞の樹立効率を向上させる効果を確認した。さらに、フィーダー細胞非存在下での培養においてもヒトiPS細胞の生存を増強できることを見いだしている⁴⁰⁾。今回の研究では、有効性は確認されたものの活性成分の分離、同定には至っていない。近い将来には成分特定された上で、幅広く医療現場で活用されることを願っている。

おわりに

各種きのか菌糸体成分の抗酸化作用を調査し、メシマコブが高い活性を示すことを発見した。そこで、メシマコブに注目し抗酸化作用と代替医療への応用を調査した。メシマコブは古くから漢方に供せられてきたきのかである。今回の結果から、メシマコブの菌糸体成分には予防医学的な観点からの抗酸化活性（スーパーオキシド消去能）を有し、さらに日本国内において国民病といわれているアレルギー疾患に対しても有効な作用を示すことが考えられた。今回は紹介できなかったが、臨床試験によって動物実験と同様にアレルギー疾患に対する多くのデータが蓄積されつつある。アレルギー症例では花粉症等の軽微な症状の場合は改善若しくは軽減される傾向が示されている。

また、先端研究として、「インフルエンザワクチンに対するアジュバント作用」および「脳血管障害（脳梗塞）の改善作用：実験的局所脳虚血巣縮小効果」に関する成果を報告することができた。最後に、エビデンスを取ることは必要であるが、最終目標としては如何に人体に対

し有用性を示すか、疾病で苦しんでいる方々に
対し改善効果を示すきのこ（子実体）および菌
糸体の素材を提供できるかが重要であり、その
ためにも臨床試験を含めた更なる有効性の調査
を行う予定でいる。

謝辞

今回、ご指導を頂いた金沢大学名誉教授の松
郷誠一先生からの紹介で筆を執りました。私が
大学在籍中の 2001 年 6 月に北京での国際シン
ポジウムでレスター・パッカー博士 (Fig. 10)
と初めてお会いし、松郷先生との関係を話した
上で様々な助言を頂きました。特に、先生の優
しい人柄と研究に対するアクティブな会話から、
当時はあまり耳慣れなかった活性酸素、抗
酸化作用の情報を直接聞くことができ感銘を受
けたことを今でも覚えています。この経験は現
在の私自身が進めている研究の柱になってい
ると思っています。今でこそ、抗酸化活性、活
性酸素の意味は理解されてきていますが、先駆
者的な研究を進めてきたレスター・パッカー博
士の偉業に対して深く感謝し、安らかにご永眠
されることをお祈り申し上げます。

また、今回の機能性研究を遂行するにあたり
多くの先生方のご協力を頂き、成果を達成する



Fig. 10 Pictures of Dr. Packer and Nakamura at the Beijing Symposium (June 7th, 2001)

ことができました。以下に共同研究に際して、
ご指導、ご協力を頂いた先生方を紹介します。

近畿大学農学部 教授 駒井功一郎先生、静岡
大学創造科学技術大学院 教授 河岸洋和先生、
北里大学 松尾純孝先生、東京大学 名誉教授
金ヶ崎史郎先生、東京女子医科大学 元病院長
岡田芳和先生、京都大学医学部 教授 川上浩司
先生、京都大学 iPS 細胞研究所 中川誠人先生、
国立感染症研究所 感染病理部 部長 長谷川秀樹
先生に対しまして、この場をお借りし感謝いた
します。

参考文献

1. 中村友幸, 松郷誠一ほか: *Agaricus blazei* (菌糸体・子実体) 由来粗成分における抗腫瘍活性 (*in vivo*, *in vitro*) および抗酸化活性の評価. 日本応用きのこ学会, **10**: 35-41. 2002.
2. 中村友幸, 河岸洋和: きのこの生理活性と機能 素材編 カワリハラタケ. CMC 出版, 81-87. 2005.
3. 中村友幸: きのこの生理活性と機能 素材編 カバノアナタケ. CMC 出版, 107-115. 2005.
4. Kawagishi H, Masui A, Tokuyama S, Nakamura T: Erinacines J and K from the mycelia of *Herichium erinaceum*. *Tetrahedron* **62**: 8463-8466, 2006.
5. Shimada T, Nakamura T, *et al.*: Suppression of adipocyte differentiation by *Cordyceps militaris* through activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Am J Physiol-Endocrinol and metab.* **295**:E859-867, 2008.
6. Mukai M, Nakamura T, *et al.*: Blockade of the aryl hydrocarbon receptor pathway triggered by dioxin, polycyclic aromatic hydrocarbons and cigarette smoke by *Phellinus linteus*. *Biol Pharm Bull.* **31**: 1888-1893, 2008.
7. 中村友幸, 河岸洋和: 食品機能性の科学 きのこの健康効果 カワリハラタケ (アガリクス・ヒメマツタケ). 産業技術サービスセンター, 704-707. 2008.
8. Takahashi S, Nakamura T, *et al.*: Blockade of adipocyte differentiation by cordycepin. *Br. J. Pharm.* **167**: 561-575, 2012.
9. 中村友幸: 応用細胞資源利用学 第 2 巻 - 食材の細胞科学・産業的応用 - 第 5 章 機能性食品素材としてのきのこの利用. 大学教育出版, 62-71. 2015.

10. 中村友幸：きのこの生理機能と応用開発の展望 第 20 章 カバノアナタケ . S & T 出版, 334-340. 2017.
11. 中村友幸, 松郷誠一, 兎束保之：液体培地を用いたメシマコブ菌糸体培養に関する生理学的要因の詳細な検討. 日本菌学会誌, **41**: 177-182. 2000.
12. Nakamura T, Fukuda M, Matsugo S, Uzuka Y: Analysis of mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphisms for examining genetic variability among the isolates of *Phellinus linteus*. *Mycoscience* **43**: 443-445, 2002.
13. 中村友幸：担子菌きのこ培養菌糸体の機能性における研究体系ー薬用きのこ：メシマコブに注目してー. 日本きのこ学会誌, **17**(4): 137-144. 2009.
14. 中村友幸：メシマコブの遺伝子解析と各種薬理作用. *FOOD Style* **21**, **9**: 84-87. 2003.
15. 中村友幸：メシマコブ菌糸体における各種薬理作用. 東洋医学舎, **16**(5): 52-59. 2004.
16. Nakamura T, Akiyama Y, Matsugo S, Shibata K, Kawagishi H: Research in the antioxidant of *Phellinus linteus* mycelia. *Journal of Photoscienc.* **9**(2): 421-423, 2002.
17. Nakamura T, et. al.: Purification of caffeic acid as an antioxidant from submerged culture mycelia of *Phellinus linteus* (Berk. et. Curt.) Teng (*Aphyllphoromycetidae*). *Int. J. Med. Mushr.* **5**: 163-167. 2003.
18. Ikekawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F: Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* **59**: 155-157. 1968.
19. 中島豊：メシマコブの栽培. 日本林学会九州支部研報, **51**: 161-162. 1998.
20. 川村倫子ほか：ヤマグワにおけるメシマコブと他の木材腐朽菌との相互作用. 日本きのこ学会, **16**(1): 37-42. 2008.
21. Nakamura T, Matsugo S, Uzuka Y, Matsuo S, Kawagishi H: Fractionation and anti-tumor activity of the mycelia of liquid cultured *Phellinus linteus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**: 868-872. 2004.
22. 中村友幸ほか：アレルギー反応抑制剤. 特許第 3480926 号, 2003.
23. Nakamura T, Matsugo S, Uzuka Y and Matsuo S: General toxicity and suppressive effects on type-I allergy (suppressive effects on IgE production) by *Phellinus linteus* mycelial components. *Mushroom Science and Biotechnology*. **12**(1): 17-22, 2004.
24. 清水隆雪, 中村友幸, 河岸洋和ほか：メシマコブ菌糸体熱水画分の抗アレルギー作用についての検討. 薬学雑誌, **125**: 226-229. 2005.
25. Inagaki N, Nakamura T, et al.: Inhibition of IgE-dependent mouse triphasic cutaneous reaction by a boiling water fraction separated from mycelium of *Phellinus linteus*. *Evid Based Complement Alternat. Med.* **2**: 369-374. 2005.
26. 中村友幸, 河岸洋和, ほか：メシマコブ (PL-08 菌株) 菌糸体成分の抗アレルギー作用. アレルギーの臨床, **359**: 74-77. 2007.
27. 中村友幸, 河岸洋和：きのこの生理活性と機能 素材編 メシマコブ. CMC 出版, 228-238. 2005.
28. 中村友幸, 駒井功一郎ほか：ヒスタミン遊離抑制剤. 特許第 4018592 号, 2007.
29. 中村友幸, 河岸洋和：食品機能性の科学 きのこの健康効果 メシマコブ. 産業技術サービスセンター, 708-712. 2008.
30. 中村友幸：きのこの生理機能と応用開発の展望 第 22 章 メシマコブ. S & T 出版, 348-359. 2017.
31. Hasegawa H, Nakamura T, et. al.: Induction of cross-protective immunity against H5N1 influenza virus by intranasal vaccine with mycelia extracts of mushroom. *J Med Virol.* **82**(1): 128-137, 2010.
32. 中村友幸, 長谷川秀樹, 国立感染症研究所長ほか：インフルエンザウイルスの不活化抗原に対するアジュバント, 及び分泌型 IgA 抗体誘導剤. 特許第 5272129 号, 2013.
33. Kobayashi T, et. al.: Modified permanent middle cerebral artery occlusion rat model aiming to reduce variability in infarct size. *Neurol. Res.* **29**: 884-887. 2007.
34. Kawamata T, et al.: Intracisternal basic fibroblast growth factor enhances functional recovery and up-regulates the expression of a molecular marker of neuronal sprouting following focal cerebral infarction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 8179-8184. 1997.
35. Kawamata T, et. al.: Intracisternal antisense oligonucleotide to growth associated protein-43 blocks the recovery-promoting effects of basic fibroblast growth factor after focal stroke. *Exp. Neurol.* **158**: 89-96. 1999.

36. Goldlust EJ, *et. al.*: Automated measurement of infarct size with scanned images of triphenyltetrazolium chloride-stained rat brains. *Stroke* **27**: 1657-1662. 1996.
37. Swanson RA, *et. al.*: A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **10**: 290-293. 1990.
38. 中村友幸, 岡田芳和ほか: 脳梗塞障害の予防又は治療剤. 特許第 5313470 号, 2013.
39. Suzuki S, Nakamura T, *et. al.*: Filtrate of *Phellinus linteus* broth culture reduces infarct size significantly in a rat model of permanent focal cerebral ischemia. *Evid Based Complement Alternat. Med.* Article ID 326319, 7 pages 2011.
40. 中村友幸, 中川誠人, 国立大学法人京都大学ほか: 人工多能性幹細胞樹立効率改善剤. 特許第 5696282 号, 2015.

連絡先: 中村 友幸 (Tomoyuki Nakamura)
NPO 法人 応用きのこ総合研究所
〒 406-0834 山梨県笛吹市八代町岡 592 番地
Tel: 055-267-7002
e-mail: n-tomo@ace.ocn.ne.jp

カフェインを低減化した 緑茶（低カフェイン茶）と後発酵茶の 開発および機能性

Health benefits of post-fermented green tea with reduced caffeine as a functional food

斎藤 貴江子 (SAITO Kieko)^{1,2} 中村 順行 (NAKAMURA Yoriyuki)²

¹ 静岡県立大学食品栄養科学部環境生命科学科, ² 静岡県立大学茶学総合研究センター

Key Words : 緑茶 乳酸発酵 後発酵茶 低カフェイン茶 抗酸化 機能性食品

Health benefits of post-fermented green tea with reduced caffeine as a functional food

Kieko Saito^{1, 2*} and Yoriyuki Nakamura²

¹Department of Environmental and Life Sciences, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka

²Tea Science Center, University of Shizuoka

Key Words: green tea, lactic acid fermentation, post-fermented tea, low caffeine tea, antioxidant functional food

Abstract

Many kinds of tea are produced and consumed worldwide. One reason for tea's popularity is that it exhibits various physiological functions. Green tea contains catechins, caffeine and theanine as the main components, with each component imparting a distinct taste. However, caffeine exhibits some side effects, such as sleeplessness. In this study, green tea with reduced caffeine (low caffeine tea) was manufactured using a hot-water spray process. In addition, we developed a post-fermented tea using the low caffeine tea to exhibit positive functions to maintain our health. The low caffeine tea leaves were fermented with lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*) for four weeks. As fermentation progressed, theanine and catechin contents tended to decrease, though caffeine level was unchanged. The infusion of the post-fermented tea exhibited high antioxidative activity during fermentation, while important antioxidant catechin content was decreased. In addition, the preadipocyte differentiation-inhibitory test showed the inhibition effect of the post-fermented tea infusion on adipogenesis in a dose-dependent manner. These results showed that the fermentation did not affect the antioxidant and anti-adipogenesis activities. Fermentation denatured the structure of leaf tissue, and some novel molecules might have been produced, exhibiting positive effects. These results showed that the post-fermented tea we developed was a unique tea product showing antioxidative activity and adipogenesis inhibitory effect and may prove to be a functional food for our health.

*To whom correspondence should be addressed.

Department of Environmental and Life Sciences, School of Food and Nutritional Sciences

University of Shizuoka, 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526 Japan

Tel/Fax : +81-54-264-5920 E-mail : saitok@u-shizuoka-ken.ac.jp

はじめに

中国の神農（農業・漢方の祖）は、野草の毒消しにお茶の葉を食べていたという伝説から、お茶の発見は紀元前 2700 年頃と考えられる。

漢の時代（紀元前 1 世紀）の医学書「神農本草経（しんのうほんぞうきょう）」には、「茶味苦，飲之使人益思，少臥，輕身，明目」の記述があることから，すでにこの頃，お茶はよく知られていたようであり，1～2 世紀頃から薬として用いられていたと文献に記されている。また，鎌倉時代に日本に茶を普及させた栄西禪師の著書「喫茶養生記」に，「茶は養生の仙薬なり」と茶のすぐれた効能が述べられている。今ではその効能が科学的に証明され，世界中に知られるようになった。近年の生活習慣病の発症率の高まりにより，肥満，高血圧，糖尿病などの改善効果がある茶の機能性食品としての需要が高まっている。また，世界無形文化遺産となった「和食」に関心が高まるとともに，伝統的な味噌，醤油などの微生物による発酵食品も注目されるようになってきた。特に乳酸菌には血圧降下作用，脂質代謝改善，免疫賦活作用などの生理機能があることが報告されている¹⁾。茶にはプーアル茶のように古くから微生物などを利用して作られる発酵茶（後発酵茶）がある。また，日本では，乳酸菌や麹菌を用いた発酵茶（後発酵茶）として伝統的な徳島の阿波番茶，高知の碁石茶などがある。

しかしながら茶に含まれるカフェインは，様々な生理機能を有する一方で睡眠障害などの副作用もあるため，夜間に茶の飲用を控える人も多い。そこで筆者らは，カフェインを低減化した緑茶（低カフェイン茶）を作製し，その低カフェイン茶を乳酸菌で発酵させた後発酵茶を開発した。

本稿では，低カフェイン茶と後発酵茶の開発方法とその特性，抗酸化活性，機能性について筆者らが行った研究成果を中心に新規食品素材としての有効性について述べる。

1. 緑茶の成分と特性²⁾

茶（*Camellia sinensis*）の主要な成分は，乾燥茶葉中に 10-18% 含まれているカテキン，2-4% 含まれているカフェイン，そして 0.6-2% 含まれているテアニンである。これらの特徴的な成分がお茶の魅力的な味わいを醸し出している。茶葉中に最も多く含まれているカテキンは渋味の主成分であるが，形の違う主要な 4 種類のカテキン（エピカテキン，EC；エピガロカテキン，EGC；エピカテキンガレート，ECG；エピガロカテキンガレート，EGCG）からなっている。茶の抗酸化活性の中心的な役割を担っているのはカテキンで，生体機能性に関する報告も一番多い。苦味の主成分カフェインは，摂取されると体内での吸収が早く中枢神経に作用し効果が即効的であり依存性が強い。苦みは舌の根の中央部で感じ，苦さとして感じるまでに時間がかかるが持続性がある。また，その感受性は，塩味，酸味，甘味，旨味などに比べて高いことが知られている。私たちがお茶を嗜好品として飲むようになったのは，カフェインの作用によって効果的に気分が爽快になったためであるといわれている。また，旨味の主成分であるテアニンは非常に珍しいアミノ酸で，近縁のツバキ科の数種や茶以外ではニセイロガワリという特殊なキノコにしか含まれていない。近年，脳に作用しリラックス効果や認知機能改善作用なども報告され，注目されている。

茶葉にはカテキン，カフェイン，テアニンの他に，アミノ酸，糖類，ビタミン等の多くの成分が含まれる。お茶の成分とそれらの効果・効能を Table.1 に示した。

2. カフェインを低減化した緑茶（低カフェイン茶）

2-1. 低カフェイン茶の製造と特性

緑茶は私たちの健康維持に効果的な嗜好品であることから，世界中で飲用されている。しかし，主要成分であるカフェインによる睡眠障害などの副作用や妊娠中の乳児への影響を心配して茶の飲用を控えている人も多い。そのため近

Table.1 お茶の主な成分と効果・効能

成分名	効果・効能
カテキン	抗酸化作用, 抗変異原性, 抗がん作用, 抗肥満作用, コレステロール上昇抑制作用, 抗動脈硬化作用, 血糖値上昇抑制作用, 血漿板凝集抑制作用, 抗菌・抗ウィルス作用, 抗う蝕作用, 腸内フローラ改善作用, 抗炎症・抗アレルギー作用, 免疫機能改善作用
カフェイン	中枢神経興奮作用, 眠気防止, 強心, 利尿作用, 代謝促進, 抗腫瘍剤効果増強
テアニン	脳・自律神経調節作用, 認知障害予防作用, リラックス効果, 抗腫瘍剤効果増強
フラボノール	口臭予防, 血管壁強化
複合多糖類	血糖低下作用
ビタミン C	抗壞血病, 抗酸化作用, 抗がん作用, 免疫機能改善, ストレス解消, 白内障予防, しみ・そばかす抑制, 風邪予防
γ- アミノ酢酸 (GABA)	血圧低下作用
サポニン	抗喘息, 抗菌作用. 血圧上昇抑制, 抗炎症作用
ビタミン B ₂	口角炎, 皮膚炎予防, 脂質過酸化抑制
水溶性食物繊維	抗がん作用 (大腸がん), 血中コレステロール低下作用, 血圧上昇抑制
不溶性食物繊維*	抗がん作用 (大腸がん), 血圧上昇抑制
ビタミン A*	抗酸化作用
ビタミン E*	溶血防止, 抗酸化作用, 脂質過酸化抑制, 抗がん剤, 抗糖尿, 血行促進, 白内障予防, 免疫機能改善
クロロフィル	消臭効果
無機成分	抗酸化作用, 味覚異常防止, 免疫機能低下抑制, むし歯予防 (フッ素)
コエンザイム Q ₁₀ *	老化予防, 美肌効果

* は水不溶性成分

年, カフェイン濃度の低い緑茶の需要は高く, 様々な低カフェイン茶が販売されているが, 製造過程で化学薬品や樹脂を用いている場合や, 高価な商品も多かった³⁾。また, 風味・香り・味などが通常の煎茶に比べて劣り, 消費者の嗜好に合った低カフェイン茶の実現には至っていなかった。

筆者らはカフェインを抑えている人が安心して飲用することができるカフェイン含有量の低い緑茶「低カフェイン茶」を作るために,

熱水で溶出しやすい, カフェインの性質を利用した。本研究では, 効率を高め品質を向上させるために熱水シャワー方式を用いた⁴⁻⁶⁾。生葉 (*Camellia sinensis*) を摘採後, カフェインの処理条件は先行研究の結果から得られた条件である, 熱水温度 95℃, 処理時間 180 秒⁷⁾ を用いた。脱水後, 通常の煎茶製造工程に準じて低カフェイン茶を作製した (Fig.1)。茶葉 3g をそれぞれ冷水 100mL 中に 0.5, 3, 6 時間, 室温 (25℃) にて浸出させ, その浸出液を遠心,

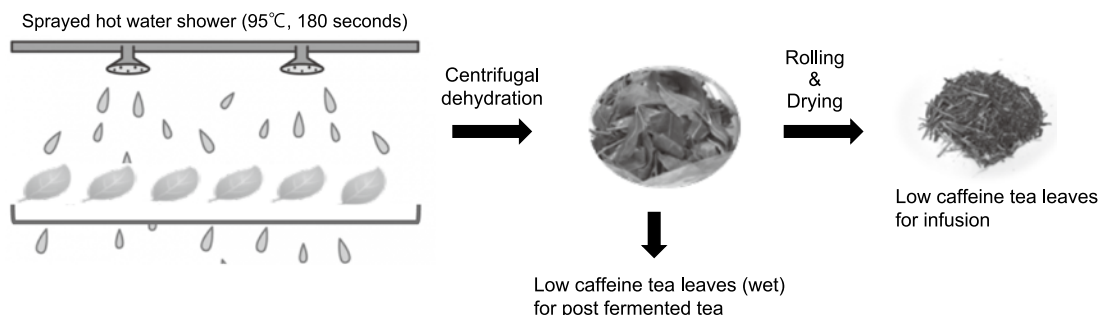
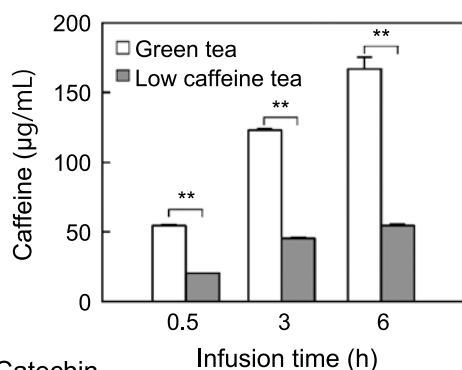
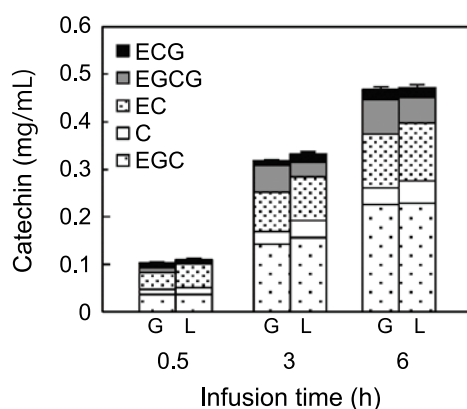


Fig. 1 Low caffeine tea manufacturing process

A. Caffeine



B. Catechin



C. Theanine

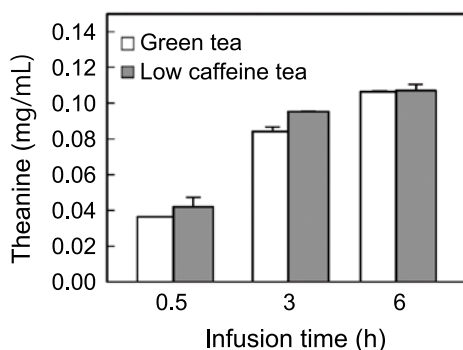


Fig. 2 Analysis of the content of main components of low caffeine tea and green tea.

Asterisk (*) indicates statistical significance compared with green tea at the same time. G, green tea; L, low caffeine tea. Each bar shows the mean $\pm$ SD ($n=3$, ** $p<0.005$, * $p<0.05$).

濾過後、主要成分、カフェイン、カテキン類、テアニンを高速液体クロマトグラフィーで測定した (Fig.2)。その結果、コントロールの普通煎茶と低カフェイン茶の主要成分は茶葉を浸出させる時間に依存して溶出された。

低カフェイン茶に含まれるカフェインは普通煎茶に比べてゆっくりと溶出され、0.5時間、3時間で普通煎茶の濃度に比べて有意に低かった。さらに6時間の低カフェイン茶のカフェイン濃度は普通煎茶に比べて約70%も低かった。一方、カテキンとテアニンに関しては普通煎茶、低カフェイン茶ともに同様の傾向を示し浸出時間に依存して増加したが、浸出6時間では普通煎茶と低カフェイン茶に有意な浸出量の違いは見られなかった。また、カテキン類のうち、一番浸出量が多かったのは、EGCであり、次にEC、EGCG、C、ECGの順で、普通煎茶と低カフェイン茶ともに同様の傾向だった。茶葉に一番多く含まれているEGCGが、本研究の浸出液中にはあまり多く含まれていなかった。この結果は、冷水ではEGCが溶出し易くEGCGは溶出しにくいという報告^{8,9)}と一致しており、渋みが強いとされるEGCGの減少によりまろやかな味になると思われる。

以上のように、本研究ではカテキンとテアニン含有量は普通煎茶と有意な差がなく、カフェインだけが70%除去された緑茶を製造することができた。

カフェインを全く含まない緑茶も市販されるようになったが、カフェインは副作用もある一方、鎮痛作用や、記憶力向上などの効果もある。渋味成分であるカテキンの抗肥満作用や抗菌作用は知られているが、カテキンの単独摂取よりもカフェインと併用することにより効果が増強する^{10,11)}。また、おいしいお茶にはカフェインが必要であることも報告されている¹²⁾。これらのことから、緑茶のカフェインをすべて取り除くよりも低減化することによって、味や生体機能性が維持され、品質の高い嗜好品になることが考えられる。また、カフェインを全量取り除くことは味の劣化を引き起こし、品質や味

覚の向上のために化学物質の添加につながることに懸念される。実際に消費者を対象とした嗜好調査においても、30～40%の人が低カフェイン茶を好むという評価を得た¹³⁾。この結果は、これまでの低カフェイン茶の市場¹⁴⁾を考えると消費者に比較的好まれる緑茶であると思われる。

2-2. 低カフェイン茶の抗酸化活性

生体内で発生した活性酸素は、体内に侵入してきた細菌やウイルスを殺し、生体防御の有用な役目も果たす一方で、ストレス・紫外線・喫煙・過度の運動などで過剰に発生し組織に障害を及ぼす。活性酸素が様々な病態や疾患に関与していることが様々な研究から明らかになっている。この過剰な活性酸素を消去し酸化障害から生体を守る働きをするのが抗酸化物質であり、茶のカテキンにその効果があることが確認されていることから、低カフェイン茶についても抗酸化活性を調べた。安定なラジカルであるDPPH (2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl) の溶液を用いて測定を行った。低カフェイン茶とDPPHラジカルの反応後のDPPHラジカルの消去率を抗酸化活性として示した(Fig.3)。この結果からもわかるように、低カフェイン茶の抗酸化活性は普通煎茶と同様に高い抗酸化活性を示し、カフェインを取り除く熱水処理過程で失活することなく保持されていた。

茶の成分のエピガロカテキンガレート(EGCG)の抗酸化力は強く、試験管内の実験

では、抗酸化物質として知られているビタミンCやビタミンEの数倍から数十倍といわれている¹⁵⁾。実験に用いた低カフェイン茶の浸出液にはEGCGに比べEGCが多く含まれていたにもかかわらず、高い抗酸化活性を示したことは興味深い。また、最近の研究でEGCGに比べEGCが免疫系で重要な役割を果たしているマクロファージの食作用を増強させることが明らかになり^{8,9)}、カフェインを控えている人だけでなく、この低カフェイン茶の水出しの継続的な飲用で、カフェインの副作用なく健康効果が期待される。

現在までに、この低カフェイン茶には抗ストレス効果があることが動物実験によって確認されているが¹⁶⁾、今後ヒトに対する効果も明らかになると思われる。

3. 低カフェイン茶を用いた後発酵茶

3-1. 低カフェイン茶を用いた後発酵茶の開発と特性

熱水シャワー方式で製造された低カフェイン茶を用いて後発酵茶を開発した(Fig.4)。微生物は、様々な発酵食品に用いられている、カテキン耐性の植物性乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* を使用した。低カフェイン茶葉1 kg (wet) に *Lactobacillus plantarum* (1.7×10^{10} 個) 懸濁液を加えて混和し25℃の暗所で4週間、発酵させた。後発酵茶の発酵の進行に伴う浸出液の酸性度を調べた結果、発酵前のpH5.8から発酵後7日目まで急激にpHが低下した後、あ

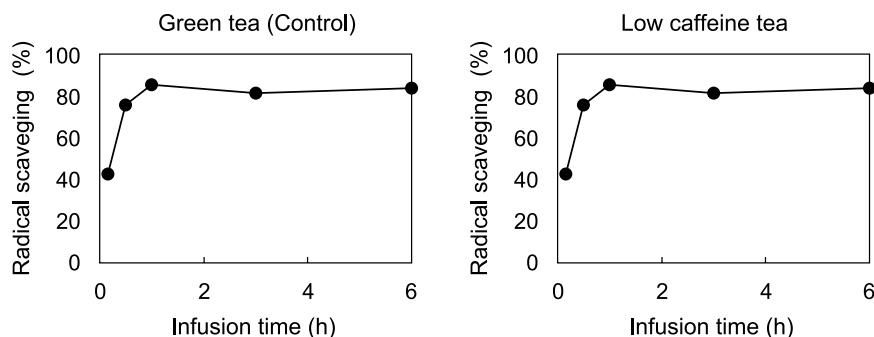


Fig. 3. Comparison of anti-oxidative activity in green tea and low

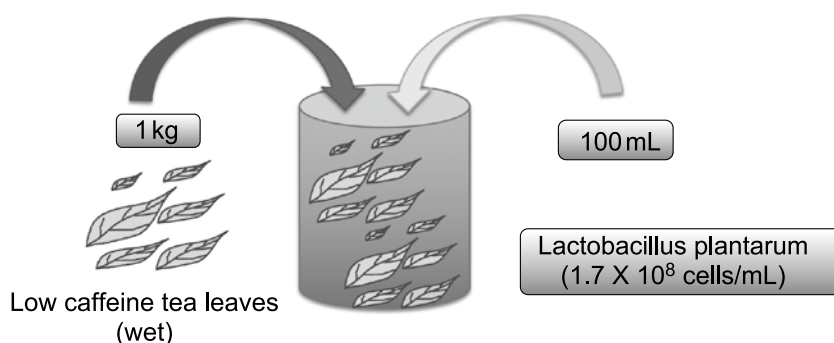


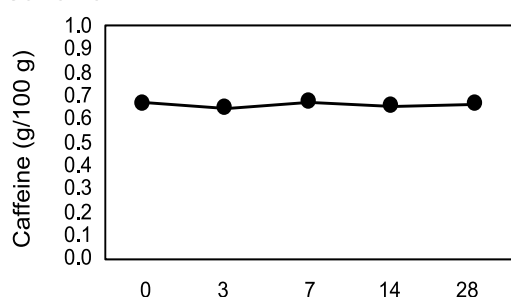
Fig. 4. Preparation of post fermented tea

まり変化せず21～28日目でpH4.5になった(データ示さず)。このようなpHの低下は、*L. plantarum*の働きによって嫌氣的に乳酸発酵が進行したことを示している。

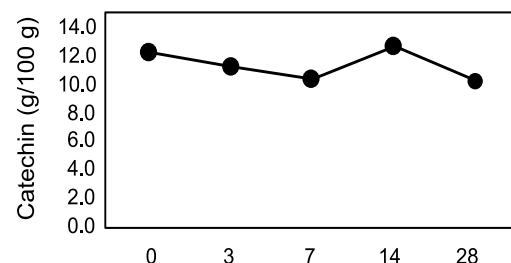
このようにして製造した後発酵茶の発酵中のカフェイン、カテキン(EGC, EC, EGCG, ECG), テアニン含有量を測定した(Fig.5)。カフェインは4週間変化がなく一定量を維持していたが、カテキンは2週間後に若干増加した以外は穏やかに減少した。カテキンの減少は乳酸発酵による酵素で分解されたり、酸性条件下で不安定なことが影響しているかもしれない。また、一時的にカテキンの総量が増加したのは、含有量の高いEGCGが低分子のEGCやECに分解された可能性が高い。テアニンは1週間の急激な減少後、増加に転じ4週間後には発酵前の含有量に近づいた。初期の減少傾向は発酵による分解であると思われるがその後に増加した要因は明らかではない。しかし、テアニンの生合成に必要なグルタミン酸とエチルアミンの存在下で、微生物の酵素によって合成が可能であることが、近年の研究で証明されている^{17,18)}。

本研究の乳酸発酵過程でテアニンが合成される条件が整ったとしたら非常に興味深く、今後の詳細な研究が待たれる。これらの結果から、主要成分のうちカフェインだけが乳酸発酵の影響を受けず、安定した含有量を維持していることがわかった。

Caffeine



Total Catechins



Theanine

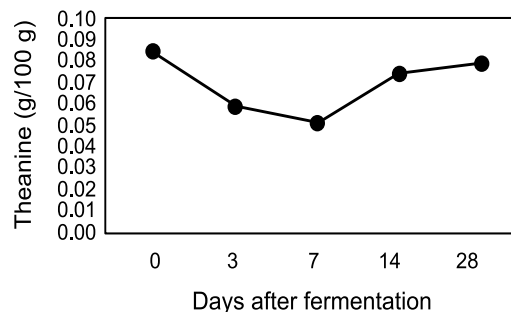


Fig. 5 Change of caffeine, catechin and theanine contents of the infusion of post-fermented green tea with reduced caffeine during fermentation

3-2. 低カフェイン茶を用いた後発酵茶の生体機能性

3-2-1. 抗酸化活性

後発酵茶抽出液の生体機能性について、前述した方法と同様に抗酸化活性を調べた (Fig.6)。後発酵茶抽出液の抗酸化活性は、乳酸発酵処理前のコントロールと有意な差がなかった。乳酸発酵の初期から4週間にわたり同じ活性を維持したことから、抗酸化活性は乳酸発酵の影響がなかったことを示している。

しかしながら、抗酸化活性が強い EGCG は、発酵が進行するに従い分解され減少したと思われる。乳酸菌の増加とその代謝物の働きによって、抗酸化活性が数週間維持された可能性がある¹⁹⁾。どのような分子がこの抗酸化活性に関

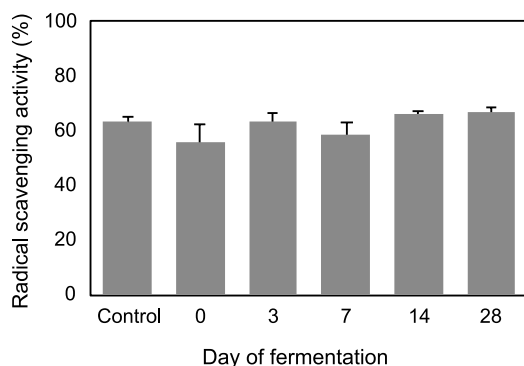


Fig. 6. Anti-oxidative activity of the extract of post-fermented green tea with reduced caffeine. DPPH radical scavenging activity was analyzed spectrophotometrically.

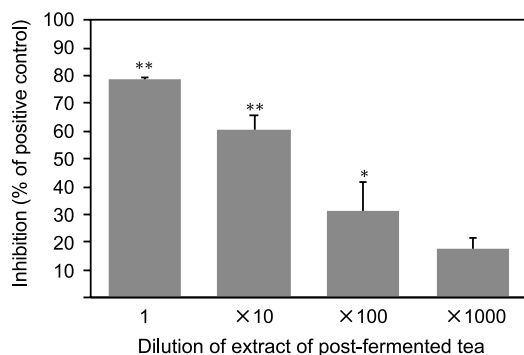


Fig.7. Inhibitory effect of the infusion of post-fermented green tea with reduced caffeine on adipogenesis. Each bar shows the mean±SEM (n=3; **p<0.005, *p<0.05)

与しているか、今後詳細な研究が必要であるが、新規抗酸化物質が発見されるかも知れない。

3-2-2. 脂肪細胞分化抑制作用

近年、食生活の欧米化に伴い生活習慣病が問題となっている。その危険因子である肥満に対する効果について検討した。抗肥満効果の指標として脂肪細胞分化抑制試験を行った^{20, 21)}。脂肪前駆細胞 (MC3T3-L1) は、脂肪細胞に分化すると細胞内に脂肪滴を生成する。この脂肪滴を染色して視覚化した後に定量化した (Fig.7)。実験方法として、14日間乳酸発酵した後発酵茶の抽出液 (10倍, 100倍, 1000倍に希釈) と分化誘導因子を添加して脂肪前駆細胞を培養した²²⁾。その結果、抽出液を加えた脂肪細胞は分化誘導因子のみを加えたコントロールに比べて約80%, 脂肪細胞への分化を抑制し、10倍希釈液で60%, 100倍希釈液で30%, さらに1000倍に希釈した抽出液にも20%の抑制作用が確認された。このように、本研究で開発された後発酵茶は高い抗酸化活性を持つだけでなく、脂肪前駆細胞の分化を抑制する働きがあり、抗肥満効果が期待される。

おわりに

良薬は口に苦し、と言われるように、苦みを持つ緑茶には多くの効能がある。

緑茶のこれまでに報告された成分とその効果・効能 (表参照) は主に動物 (マウスやラット) や培養細胞による実験で証明されたものが多く、ヒトでの実証 (臨床例や介入試験) による例は少ないが、確実に蓄積されてきている。緑茶の様々な健康効果が広く認められている一方で、機能性を持つ新たな茶の加工品が期待されている。本研究では、低カフェイン茶を製造し、それを用いて後発酵茶を開発した。また、その抗酸化活性や機能性について今までに得られた知見を述べた。低カフェイン茶の製造に用いた熱シャワー方式は安価で簡便であり、低価格で提供することが可能となった。カフェインを抑えていた人たちの日常の飲用を容易にして

茶の効能を広めることができるだろう。茶はこれまでも食用に用いられていたが、最近では、そのバリエーションも豊富になり積極的に料理に使用されるようになってきた。茶を淹れた後の葉には70～80%が不溶性成分として残るため、“食べる”ことは栄養の面から有効なことである。本研究の後発酵茶の味覚についての調査結果の詳細は本稿では割愛するが、渋みや苦みが薄れてまろやかになり、甘酸っぱい味とさわやかな香りを呈した。この後発酵茶を素材として、ソーセージ等の試作品を作製し試食した結果は概してみな好評であった。

高い抗酸化活性を維持し抗肥満効果も期待できる後発酵茶は、飲用だけでなく食べるお茶としても有用であることから、新たな機能性食品としての可能性を秘めている。乳酸菌には生菌として腸管内に留まり、腸内細菌叢へ作用する

ことによる効果（プロバイオティクス）だけでなく、腸内の細菌を介さず菌体成分または代謝産物が直接生体へ作用する効果（バイオジェニックス）がある²³⁾。後発酵茶の新たな機能性の解明が望まれる。今後、新たな茶の加工品の生産も活発になり、茶の健康効果がこれから注目されるだろう。しかし、タブレットとして市販されているカテキンやテアニンなどの単一の成分に頼らず、茶葉のもつすべての成分を有効に摂取することが健康維持効果には重要である。機能性食品は、短期的ではなく、長期的に適量を摂取することによってその効果が期待できる。日々、楽しみながら身体的、精神的なストレスを軽減し、予防力、免疫力、治癒力を高めるための食品素材として後発酵茶を活用したい。

引用文献

1. 日本乳酸菌学会：乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス 日本乳酸菌学会編，京都大学学術出版会，2010.
2. 衛藤英男，富田勲，榛村純一，伊勢村護，原征彦，横越英彦，山本（前田）万里 編：茶の機能，農山漁村文化協会 2013.
3. Liang H. *et al.*: Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. *Food Chem.* **101**: 1451-1456, 2007.
4. Tsushida T, Murai T.: Selective Extraction of caffeine with hot water from intact tea leaves. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*. **59**: 917-919, 1985.
5. Yamamoto MM, Nagai H, Suzuki Y, Moriwaki S, Asai K.: Manufacturing Method for Low Caffeine 'Benifuki', 'Banihomare' Green Tea Remaining the Contents of Anti-allergic Compounds. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **51**: 435-439, 2004.
6. Yamamoto MM, Nagarya H, Mitumori T, Yamaguchi Y, Horie H, Ema K, Suzuki M, Yamauchi H, Warashina F, Mizukami Y, Hirono H, Monobe M.: A Change of Chemical Components and Effect on Anti-allergic Activity in 'Benifuuki' Green Tea which was Produced with Low Caffeine Processing Machine. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **8**: 109-116, 2007.
7. Saito K, Nakamura Y.: Development and properties of green tea with reduced caffeine. *J. Exp Agri INT.* **17**: 1-6, 2017.
8. Monobe M.: Health Functions of Compounds Extracted in Cold-water Brewed Green Tea from *Camellia Sinensis* L. *Japan Agricultural Research Quarterly* **52**: 1-6, 2018.
9. Monobe M, Ema K, Tokuda Y, Yamamoto MM.: Effect on the Epigallocatechin Gallate/Epigallocatechin Ratio in a Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Extract of Different Extraction Temperatures and Its Effect on IgA Production in Mice. *Bosci. Biotechnol. Blochem.* **74**, 2501-2503, 2010.
10. Tanno, K and Nonomura, H.: Antibacterial Substances in Green Tea Extract. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **21**, 445-449, 1974.
11. Sayama, K.: Anti-obesity Effects of Three Major Components of Green Tea, Catechins, Caffeine and Theanine in

- Mice. *In vivo* **18**: 55-62, 2004.
12. Nakagawa, M.: Correlation of the Constituents with the Organoleptic Evaluation of Green Tea Liquors. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **16**: 252-258, 1969.
 13. 斎藤貴江子, 佐野満昭, 中村順行: 低カフェイン茶の特性とその嗜好性. 日本未病システム学会雑誌, **23**: 41-45, 2017.
 14. <http://www.intracen.org/coffee-guide/the-markets-for-coffee/demand---Decaffeinated-coffee/>
 15. Yoshino K, Hara Y, Sano M, Tomita I.: Antioxidative Effects of Black Tea Theaflavins and Thearubigin on Lipid Peroxidation of Rat Liver Homogenates Induced by tert-Butyl Hydroperoxide. *Biol Pharma Bull.* **17**, 146-149, 1996.
 16. Unno K, Hara A, Nakagawa A, Iguchi K, Ohshiro M, Morita A, Nakamura Y.: Antistress effects of drinking green tea with lowered caffeine and enriched theanine, epigallocatechin and arginine on psychosocial stress induced adrenal hypertrophy in mice. *Phytomedicine* **23**: 1365-1374, 2016.
 17. Sasaoka K, Kito M, Onishi Y.: Some properties of theanine synthesizing enzyme in teaseedlings. *Agric Biol Chem.* **29**: 984-988, 1965.
 18. Deng WW, Ogita S, Ashihara H.: Biosynthesis of theanine (γ -ethylamino-L-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*. *Phytochem Lett.* **1**: 115-119, 2008.
 19. Okada, S.: The world of plant origin lactic acid bacteria. *Jpn. J. Lactic Acid Bacteria.* **13**: 23-36, 2002.
 20. Halvorsen YD, Bond A, Sen A *et al.*: Thiazolidinediones and glucocorticoids synergistically induce differentiation of human adipose tissue stromal cells: biochemical, cellular, and molecular analysis. *Metabolism* **50**: 407-413, 2001.
 21. Sen A, Lea-Currie Y R, Sujkowska D *et al.*: Adipogenic potential of human adipose derived stromal cells from multiple donors is heterogeneous. *J. Cell Biochem.* **81**: 312-319, 2001.
 22. Saito K, Nakamura Y.: Change of Main Components and Physiological Functions of Post-fermented Green Tea with Reduced Caffeine. *J. Exp Agri INT.* **28**: 1-6, 2018.
 23. 光岡知足: プレバイオティクスと腸内フローラ. 腸内細菌学雑誌 **16**: 1-10, 2002.

連絡先: 斎藤 貴江子 (Kieko Saito, Ph.D.)

静岡県立大学食品栄養科学部環境生命科学科
大学院食品栄養環境科学研究院 茶学総合研究センター
〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1
Tel: 054-264-5920
e-mail: saitok@u-shizuoka-ken.ac.jp

代替医療素材としての R- α - リポ酸の科学

生田 直子 (IKUTA Naoko)¹ 松郷 誠一 (MATSUGO Seichi)²

¹ 神戸大学大学院医学研究科, ² 金沢大学名誉教授

Key Words : 代替医療 α - リポ酸 R- リポ酸 抗酸化物質 抗酸化 機能性食品

1. 歴史的背景

α - リポ酸の研究は 1930 年代に始まり, 1951 年に Reed ら¹⁾ によって酸化型 α - リポ酸が単離・同定された。Reed ら²⁾ は, 約 10 トンのウシの肝臓から複数回の抽出プロセスを経た後に, 約 30mg の α - リポ酸を結晶として取り出していることから, α - リポ酸の単離は容易なものではなかったことが想像できる。 α - リポ酸は 6 位に不斉炭素有するキラル分子であり, 天然に存在する α - リポ酸は R 体 (R (+)- α -LA, あるいは R- α - リポ酸) である。(以下, これを R- リポ酸と略す。) 鏡像異性体である S 体は化学合成により生成するが天然には存在しない。市場で利用されている α - リポ酸は化学合成されたもので R 体と S 体とを等量ずつ含むラセミ体である場合が多いが, 最近では高純度の R 体の α - リポ酸もわずかながら利用されている。リポ酸は別名チオクト酸とも呼ばれるが, これは R- リポ酸の基本骨格がオクタン酸であり, 分子内に 2 個の硫黄 (チオ) 原子がついていることに由来する。アメリカ生化学会が

Lipoic acid という物質名を採用したため, 今日では『リポ酸』という名称がより一般的になっている³⁾。リポ酸についてはこれまでに筆者らが本雑誌に掲載したものを含め数多くの研究報告がなされているが⁴⁻⁶⁾, 本稿ではリポ酸の科学と代替医療素材としての可能性について最近のトピックスを交えながら紹介する。また, リポ酸の研究の中で抗酸化物質に関する箇所は故レスター・パッカー教授が 1990 年代に活発に研究を展開することにより, 大きく進展したことを特に付言しておく。

2. R- リポ酸の化学

R- リポ酸は歪みのかかった 1, 2- ジチオラン環を分子内に有するオクタン酸の誘導体である (図 1)。その融点は 47.5℃ で⁷⁾, エタノール, メタノール, クロロホルムなどの有機溶媒には比較的よく溶けるが^{7, 8)}, 中性の水にはあまり溶けない。しかし, R- リポ酸はカルボン酸構造を有しているため, カルボン酸がカルボン酸イオンとなりうるような条件である緩衝液や弱

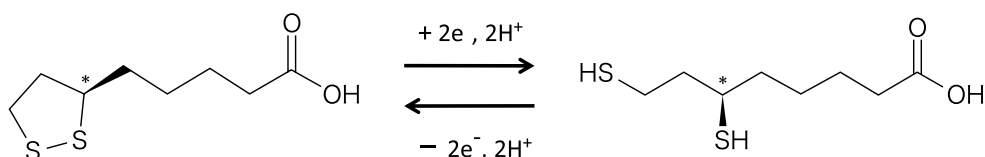


図 1 R- α - リポ酸 (左) と R- ジヒドロリポ酸 (右) の化学構造

アルカリ性になると比較的水にも容易に溶解するようになる。R-リポ酸は非常に強い抗酸化物質として広く知られており、生体内で二電子還元を受けると、対応する R-ジヒドロリポ酸に変換される (図 1)。このとき、酸化-還元の変換プロセスがスムーズに進行することが重要であるが、変換過程の起こり易さをチオール-ジスルフィドの反応系で比較・検討し、平衡定数を求めたところ、六員環の物質は五員環のものに比べて約 10~30 倍 (環上の置換基により差がある) 環化しやすいことが分かった^{9, 10)}。S-S 結合を有する直鎖型化合物は UVA 領域に吸収を示さないのに対し、R-リポ酸は歪みを有しているため、330nm 付近に極大吸収を示す。R-リポ酸は UV 照射 (UVA) により速やかに光分解を受け、R-ジヒドロリポ酸 (DHLLA) を含む多くのチオール誘導体を生成することが報告されている¹¹⁾。また、熱や光により S-S 結合のラジカル的な環開裂反応が進行し、チールラジカルの生成を経由する形でのポリマー性の化合物 (水難溶性) を与えることも古くから報告されている^{3, 7, 8)}。こうした反応性が高く熱や酸に対して不安定な物性を考慮すると、R-リポ酸を保存する場合は、遮光した状態で冷暗所にて保存することが品質管理の上からも極めて重要である。

3. R-リポ酸の生化学

R-リポ酸は生体内では、ミトコンドリアのクエン酸回路 (TCA サイクル) で働くピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体のジヒドロリポアミドアシルトランスフェラーゼ (略称 E2 酵素) およびグリシン開裂酵素系の H タンパク質の補酵素として働いており、これらタンパク質の特定のリジン残基の ϵ -アミノ基にアミド結合した形で存在している。

糖代謝において、解糖系ではグルコースからピルビン酸が生成するが、生成したピルビン酸からアセチル CoA が誘導される過程はピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体により触媒される反応であり、この反応に必要な 5 つの補酵素

が、4 種のビタミン [TPP (チアミンピロリン酸), FAD (フラビンアデニンジヌクレオチド), 補酵素 A (パントテン酸, CoA), NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)] とタンパク結合型 R-リポ酸 (ビタミン様物質) である。このタンパク結合型 R-リポ酸が欠如すると、ピルビン酸の酸化的脱炭酸が進行しなくなり、結果として糖代謝が進みにくくなる (エネルギー不足、疲労感の蓄積などが起こる)。ピルビン酸から生成したアセチル CoA はクエン酸回路に入る。このクエン酸回路が進行するには数多くの酵素が関わっているが、その一つがケトグルタル酸デヒドロゲナーゼである。この酵素は前述のピルビン酸デヒドロゲナーゼと同様に、5 つの補酵素を必要とし、その一つがタンパク結合型 R-リポ酸である。このように結合型 R-リポ酸はクエン酸回路を速やかに進行させるためにも必須である¹²⁾。

食物から摂取した脂質は体内で分解され、脂肪酸に変換された後に種々の酸化的修飾を受けた後でエネルギー代謝のシステムに入ってくる。脂肪酸の鎖が減少するプロセスには R-リポ酸は関わっていないが、生成してくるアセチル CoA は糖から生成してくるものと同様であり、クエン酸回路を通してエネルギー代謝に関わってくる。こうした側面から捉えると、R-リポ酸は間接的に脂肪酸の代謝にも関わっているといえる。体内に蓄積された脂質が代謝されエネルギーを獲得するプロセスは飢餓状態などにおいても重要であるが、こうした代謝がスムーズに進行するためにも R-リポ酸は必須と言える。

アラニン等の何種類かのアミノ酸の代謝経路は複雑ではあるが、ピルビン酸を経由して代謝される。その後は、クエン酸回路から電子伝達系へと進んでいくので、これらのアミノ酸はエネルギー代謝にも関わっていることになる。この様に、R-リポ酸は三大栄養素の代謝に関わる重要な物質ということが出来る¹²⁾。

このような生体内で重要な働きをしている R-リポ酸の生合成経路については、これまで

に多くの研究がなされてきたが未だ不明な点がある。R- リポ酸の生合成は、大腸菌などの腸内細菌により行われるが¹³⁾、腸内で生産された R- リポ酸はグリシンやプロリン輸送系と同様のシステムで血流に乗って細胞内に輸送されると考えられてきた^{14, 15)}。この輸送システムは効果的に作動し、細胞内の R- リポ酸の濃度をかなり高めることができるが、オクタン酸はこの輸送を競争的に阻害すると報告されている¹⁴⁾。(リポ酸は広義には脂肪酸として捉えることができるが、そうした観点からすると炭素数 8 のオクタン酸誘導体とも言える。) ミトコンドリアにおいても R- リポ酸の生合成が行われているという報告^{16, 17)} がなされているが、ミトコンドリア内で作られるリポ酸量が十分なものであるかどうかは現時点では不明である。

4. R- リポ酸の代謝

リポ酸のエナンチオ選択的薬物動態がヒトを対象として研究されてきたにもかかわらず¹⁸⁻²¹⁾ (Hermann ら, 1996, 1998 年 :Hermann and Niebch, 1997 年 :Keith ら, 2012 年), リポ酸の代謝に関しては未だ十分な検討が行われていない。ラットと *Pseudomonas putida* LP における代謝研究からは、リポ酸は基本的に β 酸化系により代謝され^{22, 23)} (Harrison and McCormick, 1974 年 :Furr ら, 1978 年), 主要な代謝産物は bisnorlipoic acid, tetranorlipoic acid, β -hydroxy-bisnorlipoic acid であると報告されている。また、リポ酸を経口摂取した健康なヒトから代謝産物としてジメチル化体, β 酸化された 4,6-bis-methylmercapto-hexanoic acid と 2,4-bismethylmercapto-butanoic acid が同定されている²⁴⁾ (Locher ら, 1995 年)。一方, R- リポ酸 1g を健康なボランティアへ経口投与した研究では、血漿中に β 酸化により生成した 3-keto-lipoic acid が検出されている²⁵⁾ (Biewenga ら, 1997 年)。このような酸化生成物の産生は、チオールスルフォネートが生成した後、一重項酸素²⁶⁾ または次亜塩素酸²⁷⁾ が反応した可能性が示唆されるが、生体作用におけるこれらリ

ポ酸の酸化生成物の重要性については未だよく分かっていない。また、種による代謝反応の違いについても未だ十分に解明されていない。

¹⁴C 標識したリポ酸を使った体内動態研究も行われている²⁸⁾。マウスに対して 30mg/kg, ラットに対して 30mg/kg, イヌに対して 10mg/kg の [¹⁴C] リポ酸を経口投与し、尿中排泄物を調べた結果、24 時間後に尿中に 80% 以上の放射能が排泄されることがわかった (未変化のリポ酸として検出されたのは、イヌに注射後 0.08 時間 (5 分後) のときのみであった)。その尿中代謝産物を HPLC で分析した結果、種に関わらず多くの代謝産物が生成しており、MS 分析により 12 種類の検出可能な代謝産物が同定され、ミトコンドリアにおける脂肪酸の時と同様に β 酸化がリポ酸の代謝において重要な役割を担っていることが明らかになった。代謝産物の分析から、生体に取り込まれたリポ酸の代謝経路は、 β 酸化による側鎖のメチレン鎖の酸化の後に 1,2-ジチオラン環が開裂しながらメチル化される経路やリポ酸の側鎖の炭化水素鎖が短くなっていった後に、1,2-ジチオラン環が開環するプロセスなどの複数のプロセスが同時進行しながら代謝されていくことがわかった。さらに、イヌでは最も極性の高い代謝産物として同定された 2,4-bismethylmercapto-butanoic acid のジスルホキドが主要な代謝産物であったことから、特にイヌにおいて生成したメチルスルフィドがさらに酸化されスルホキドを生成するものと考えられた。さらにマウスではグリシン抱合反応が β 酸化と競合する代謝経路であることが示唆された。アミノ酸とリポ酸の関わった生成物が得られたことは、代謝経路を考える上で極めて重要であり、これがグリシンでだけ起こっていることかどうかは興味深い処である。

また、ヒトにおいても 600mg の非ラベル化されたりポ酸の投与後、血漿あるいは尿中の 5 種類のリポ酸の代謝産物が同定されたと報告されている²⁹⁾。

5. R- リポ酸の吸収性

α - リポ酸の薬物動態については主にラセミ体についてこれまでにいくつかの研究が行われている³⁰⁻³²⁾。臨床試験では多くの場合、糖尿病患者を対象として実施されており、投与量は 600 から 1800mg/day のケースが多い^{33, 34)}。Gleiter らは、健常人を対象に 600mg のラセミ体の α - リポ酸の単回投与による吸収性試験を行い、さらに食事の影響についても検討し³⁰⁾、絶食時に比べて食後ではリポ酸の吸収性は低下したと報告している。また、Gleiter らのグループおよび Breithaupt-Grogler らのグループはそれぞれ、リポ酸の鏡像異性体に着目し、ラセミ体の α - リポ酸を被験者に投与したところ、S 体よりも R 体の吸収性のほうが高かったと報告している。我々のグループもラットを用いた吸収性試験を実施し、彼らの実験結果と同様に R 体の方が吸収性が高いことを認めている³⁵⁾。天然に存在するリポ酸は R 体であり、これまでに鏡像異性体の違いによる生理活性についても研究が進められて来たが、R 体のみを投与した吸収性試験については、2007 年に Carlson らによって初めて実施された³⁶⁾。Carlson らは、600mg の R- α - リポ酸ナトリウム塩（遊離酸の R- α - リポ酸よりも安定）を健常人に投与し、その薬物動態（PK）を調べたところ、PK パラメーターは個人差が大きかったと報告している。また、彼らは同じ研究の中で、性差についても評価し、男性と女性の間で R- α - リポ酸ナトリウム塩の吸収性に統計学的な有意差はなかったと報告している。

前述のように R- リポ酸は熱等の物理的刺激に弱いことが知られており、リポ酸の安定化は興味深いテーマの一つである。そうした試みの一つとして、包接化を用いたリポ酸の安定手法がある。我々はシクロデキストリンを用いて R- リポ酸を包接安定化し、その吸収性を評価したので、それらの結果をここに紹介する。シクロデキストリン（CD）とはグルコースが α -1,4 グリコシド結合で環状に連なった化合物で、天然に存在する環状オリゴ糖である。CD は図 2 に示すようなバケツ構造を有しており、外部は親水性を、内部は疎水性を示す。CD はこの疎水性空洞内にいろいろな分子を取り込み（これを「包接」という）、内部に分子を取りこんだ状態の複合体を「包接体」という。この包接体を形成する性質（包接作用）は現在様々な用途に利用されている。

筆者らのグループは、R- α - リポ酸- γ シクロデキストリン包接体（RALA- γ CD）を作製し、熱などの刺激に対してこれらの包接体は極めて安定であることを、各種スペクトルデータを用いて明らかにして来た³⁷⁾。さらに、吸収性について、ラット³⁸⁾ およびヒト³⁹⁾ で評価した。ラットを用いた吸収性試験においては、CD 包接により R- リポ酸の吸収量が増大することを示した。また、20 歳から 45 歳の健康な日本人男性 6 名を対象とした臨床試験を実施し、RALA- γ CD は、未包接の R- リポ酸に比べて AUC が 2.5 倍、 C_{max} が 2.4 倍に有意に増加した。 T_{max} については有意な差が観察されなかったが RALA- γ CD の T_{max} が 17.5 分、R- リポ酸が 20.8

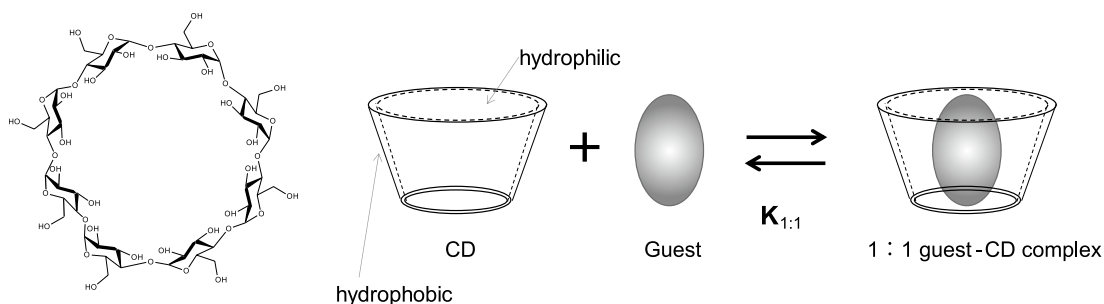


図2 γ -シクロデキストリンの環状構造（左）と 1:1 の包接体形成の模式図（右）

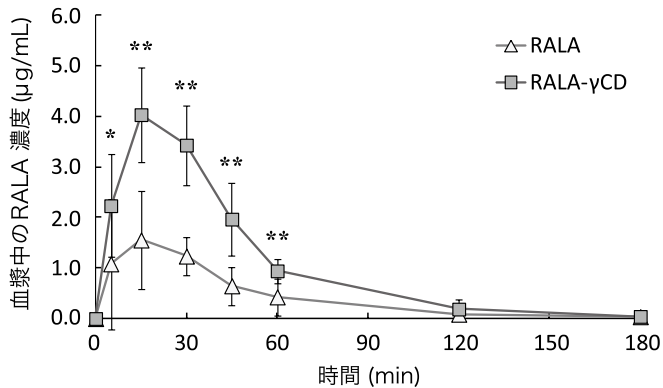


図3 健康な日本人6名によるR-リポ酸(RALA)600mgおよびR- α -リポ酸- γ シクロデキストリン包接体(RALA- γ CD)6gを経口摂取した後の血中 α -リポ酸濃度の時間的推移値は、平均値 $\pm$ S.D.。R- α -リポ酸- γ CD包接体6gはR- α -リポ酸600mgに相当。

表1 R- α -リポ酸600mgもしくはR- α -リポ酸- γ シクロデキストリン包接体6gを経口摂取した健康な日本人6名の薬物動態パラメーター

	RALA	RALA- γ CD
C_{max} (μ g/mL)	1.68 $\pm$ 1.01	4.10 $\pm$ 0.96 **
AUC _{0-180min} (μ g $\cdot$ min/mL)	78.0 $\pm$ 43.5	195.9 $\pm$ 17.7 **
T_{max} (min)	20.8 $\pm$ 10.7	17.5 $\pm$ 6.1
$T_{1/2}$ (min)	38.9 $\pm$ 12.2	23.3 $\pm$ 10.3

値は、平均値 $\pm$ S.D.。 ** $p<0.01$; RALA- γ CD (R- α -リポ酸- γ CD包接体); RALA (R- α -リポ酸); C_{max} (最大血中濃度); AUC (血中濃度曲線下面積); T_{max} (最大血中濃度到達時間); $T_{1/2}$ (半減期)

分と非常に早く吸収されることが分かった (図3, 表1)。 $T_{1/2}$ についても有意差はなかったが, CD包接による製剤化処理では血中濃度の持続性は延長しないことが分かった。

6. R-リポ酸の抗酸化活性

リポ酸の抗酸化活性が注目されるに至った経緯は、疾病とフリーラジカルとの関係が着目されたことと関連する。1959年にRosenbergらは、ビタミンC欠乏のモルモットの壊血病の症状がリポ酸を与えることにより改善されたことや、ビタミンE欠乏食を与えたラットにリポ酸を与えることによりビタミンE欠乏症を予防できることを報告した⁴⁰⁾。その後、糖尿

病性神経障害 (diabetic neuropathy)⁴¹⁾ やいくつかの神経疾患の改善^{42, 43)} にリポ酸の投与が効果的であるという報告が行われてきた。

R-リポ酸とR-ジヒドロリポ酸は生体内で共役することによって抗酸化活性を発揮し、生体の恒常性を維持している。R-リポ酸とR-ジヒドロリポ酸は種々の活性酸素種に対する消去能を有している。また、R-リポ酸/R-ジヒドロリポ酸の酸化還元電位は-0.32Vであり⁴⁴⁾、酸化型グルタチオン (GSSG) を還元型 (GSH) に戻すことができる (GSSG/GSH, -0.24V)。グルタチオンは生体において様々な機能に関わる重要な生理活性物質であり、特に酸化型グルタチオンと還元型グルタチオンの比率は細胞生理に極めて重要な意味を持つと考えられている。

抗酸化物質としての能力には、活性酸素と直接的に反応し、それを消去する能力と共に、他の貴重な抗酸化物質に作用してそれらを再生させる能力も重要である。例えば、生体

膜の脂質過酸化反応を抑制する抗酸化物質としては膜中に存在するビタミンEがある⁴⁵⁾。ビタミンEは膜中にごく少量しか存在しないが、極めて効果的に細胞膜の過酸化反応を抑制する。この過酸化反応抑制の過程においてビタミンEのフェノール性水酸基は酸化され、トコフェロキシルラジカル (ビタミンEラジカル) が生成してくるが、このラジカルは他の抗酸化物質 (例えばビタミンC) により還元され、ビタミンEが再生される。R-ジヒドロリポ酸もこうした再生に関与していると考えられている^{46, 47)}。例えば、R-ジヒドロリポ酸はミクロゾームの脂質過酸化反応を抑制するが、それは反応系内にビタミンEが存在するときだけである⁴⁸⁾。

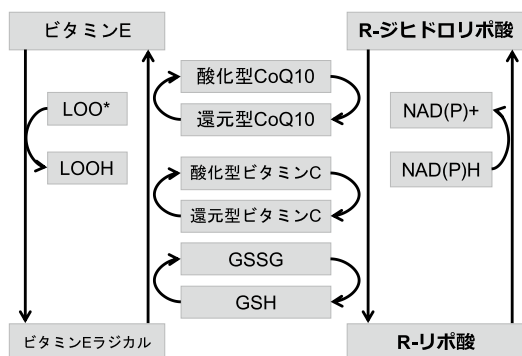


図4 生体内の抗酸化ネットワーク

略語. LOOH：脂質，NAD(P)H：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸（還元型），NAD(P)⁺：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸（酸化型）

Bast ら⁴⁹⁾ は、R-ジヒドロリポ酸のビタミンE再生メカニズムはR-ジヒドロリポ酸が酸化型グルタチオンを還元し、生成した還元型グルタチオンがトコフェロキシルラジカルと反応し還元することにより、ビタミンEを再生するものと考えた。事実、培養細胞系にR-リポ酸を添加したところ、細胞内のグルタチオン量の著しい増大が認められている^{50,51)}。一方、Kagan ら⁵²⁾ はR-ジヒドロリポ酸がビタミンCラジカルを還元し、これがビタミンEの再生に関与していると報告した。ビタミンC依存型のR-ジヒドロリポ酸によるビタミンEの再生はヒトLDL⁵³⁾や赤血球細胞⁵⁴⁾においても観察されている。こうした点を考慮すると、R-リポ酸はそれ自身が強い抗酸化物質として働く役割を担うと同時に種々の抗酸化物質を再生させることに生体における抗酸化活性を維持する役割を担っているものと考えられる。（図4）

7. α -リポ酸の抗糖尿作用、エネルギー産生作用、抗がん作用

α -リポ酸の生理活性についてはこれまでに多くの報告例があり、リポ酸の抗糖尿病効果と関連深いインスリンシグナリングへの作用を介した血糖値の調整作用について複数の研究グループが報告している⁵⁵⁻⁵⁷⁾。

7-1. 抗糖尿作用

リポ酸は古くから糖尿病の合併症の治療に使われてきた医薬品でもあるが、糖尿病における血糖コントロールや糖代謝に対するリポ酸の作用をインスリンシグナリング系と関連付けた研究も進展してきた^{58,59)}。リポ酸はインスリン受容体とインスリン受容体基質タンパク（IRS-1）のリン酸化を促進し、PI3キナーゼ、Aktの活性化を通じてGLUT4の細胞膜への移行を促進し、細胞内へのグルコースの取り込みを促進させることが、骨格筋細胞や脂肪細胞を用いた実験によって明らかとなってきた⁵⁷⁾。また、リポ酸のMAPK系への作用も報告されており、Maddux らはGLUT4を過剰発現させたL6培養ラット筋細胞系で2-デオキシグルコースの取り込みに対する酸化ストレスの影響を調べた。その結果、酸化ストレスによりグルコースの取り込みが阻害され、同時に細胞内のグルタチオン量が約50%減少し、ストレス感受性のp38MAPKが急激に活性化したが、細胞を微量のリポ酸で処理しておくことこれらの反応が抑えられたことを示した⁶⁰⁾。Blair らは同じL6細胞をH₂O₂に曝すとp38MAPKの活性化が起こり、同時にインスリン作用が阻害されたと報告している⁶¹⁾。このことは、リポ酸がこの阻害キナーゼの活性化を抑えることで酸化ストレスによるインスリン耐性の出現を抑えたものと考えられ、筋細胞におけるグルコース取り込みにはインスリンシグナル系とMAPK系のクロストークがある可能性を示すものである。リポ酸の生化学的な作用に関する最近の総説はTibullo らによって2017年にまとめられているのでこちらも参考にされるとよい⁶²⁾。

糖尿病患者にリポ酸を短期あるいは長期に投与すると、血糖値コントロール、糖代謝の改善が見られるが、この作用はインスリンの作用と類似したものである。Wang ら⁶³⁾はC57/BL6マウスとC₂C₁₂培養細胞を用いて老化に関わる実験を行っており、リポ酸を高齡のマウスに投与すると、AMPK/PGC-1 α を介したミトコンドリアにおける生合成や機能を高めることによっ

表2 高脂肪食,あるいはR- α -リポ酸もしくはR- α -リポ酸- γ シクロデキストリン包接体を配合した高脂肪食を投与したマウスのエネルギー消費量とエサの摂取量⁶⁴⁾

	高脂肪食群	高脂肪食 + R- α -リポ酸	高脂肪食 + R- α -リポ酸 - γ CD 包接体群
エネルギー消費量—非活動期(明期)(kcal * h * kg ⁻¹)	5.76 $\pm$ 0.12	5.83 $\pm$ 0.07	6.53 $\pm$ 0.11*
エネルギー消費量—非活動期(暗期)(kcal * h * kg ⁻¹)	6.58 $\pm$ 0.24	6.41 $\pm$ 0.11	7.24 $\pm$ 0.25
エネルギー消費量—24時間(kcal * h * kg ⁻¹)	6.17 $\pm$ 0.16	6.12 $\pm$ 0.09	6.79 $\pm$ 0.16*
エネルギー摂取量—24時間(g)	2.71 $\pm$ 0.10	3.03 $\pm$ 0.46	2.85 $\pm$ 0.74

値は、平均値 $\pm$ SEM (n = 4). * $p < 0.05$ v.s. 高脂肪食群.

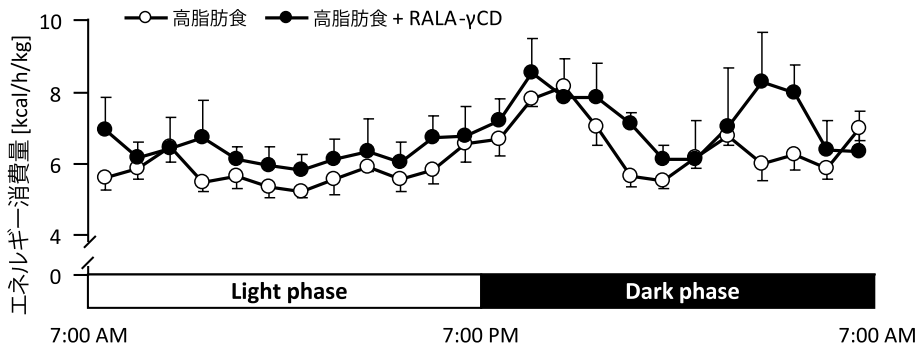


図5 高脂肪食あるいはR- α -リポ酸- γ シクロデキストリン包接体を配合した高脂肪食を投与したマウスのエネルギー消費量を1時間毎に測定した結果

数値は、平均値 $\pm$ SEM (n=4).

て、骨格筋でのエネルギー代謝が促進されると結論付けている。また、おそらくmTORのシグナリングを制御することによって骨格筋でのタンパク合成を抑制し体重を減少させたことから、高齢者の糖尿病やインスリン抵抗性に対してもリポ酸の効果が期待できるのではないかと提案している。

7-2. エネルギー産生作用

先述のRALA- γ CD包接体の生理活性についてこれまでに動物を用いた*in vivo*実験が行なわれている。高齢(16週齢)のマウスにR-リポ酸もしくはRALA- γ CD包接体を高脂肪食に混合し4ヶ月間自由摂食させたところ、RALA- γ CD包接体投与群では1日のエネルギー消費量が高脂肪食のみを与えた群に比べて有意に増大したが、R-リポ酸投与群では増大しなかった(表2)⁶⁴⁾。これは、CD包接化によってR-リポ酸の吸収性が向上したためと推察される。

この実験結果からは、マウスの非活動期(light phase)においても常にRALA- γ CD包接体投与群のエネルギー消費量がR-リポ酸のみを投与した群よりも上回っていたことから(図5)、高齢のマウスにおいてもRALA- γ CD包接体を摂取するとエネルギー消費量上がるのが推察される。作用機序については次のように説明されている。RALA- γ CD包接体の摂取は、褐色脂肪細胞中の転写因子、すなわち、Sirt3あるいはDio2を介してその下流のUCPレベルを増大させることによってエネルギー産生を促進する可能性がある、と筆者らは結論付けている(図6)。

7-3. 抗がん作用

α -リポ酸の抗がん作用について多くの研究が行われており、肝がん細胞のアポトーシスを促すという報告例も存在する。我々のグループは、ラット肝がん由来H4IIEC3培養細胞の代

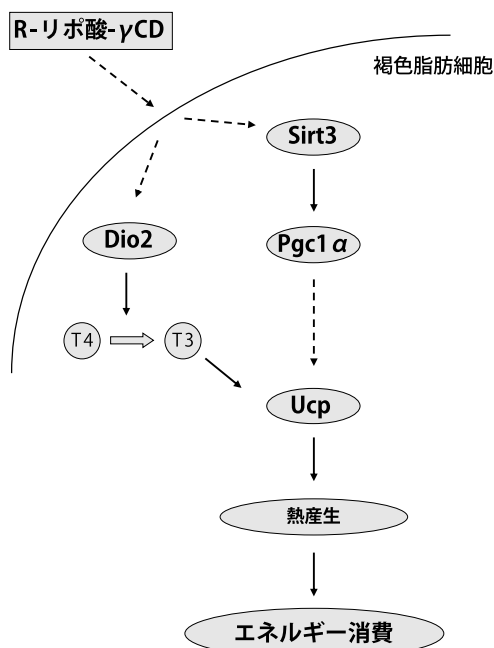


図6 R- α -リポ酸- γ -シクロデキストリン包接体のエネルギー産生促進メカニズム

謝に及ぼす α -リポ酸の影響についてラセミ体と R 体の作用の違いについて比較し、2017 年に報告している⁶⁵⁾。我々は培養した H4IIEC3 細胞を α -リポ酸のラセミ体、R 体で処理後、30 分、1 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間後の細胞内の水溶性代謝物について GC/MS を用いたメタボローム解析を行った。

その結果、クエン酸回路に関わる代謝物のプロファイルについてはラセミ体と R 体の明確な違いは観察されなかったが (いずれのリポ酸を処理した細胞においてもクエン酸回路の代謝物レベルが低い傾向にあった)、解糖系の一部の代謝物といくつかのアミノ酸のプロファイルについては R-リポ酸の処理後、細胞中のアミノ酸レベルが減少することが分かった。すなわち、R-リポ酸処理によりラット肝がん由来 H4IIEC3 細胞中の栄養素が欠乏した状態になることが示唆された。さらに、同定された代謝物の PCA 解析を行った結果、リポ酸処理 30 分後以降、細胞内の代謝物のバランスが変化し、代

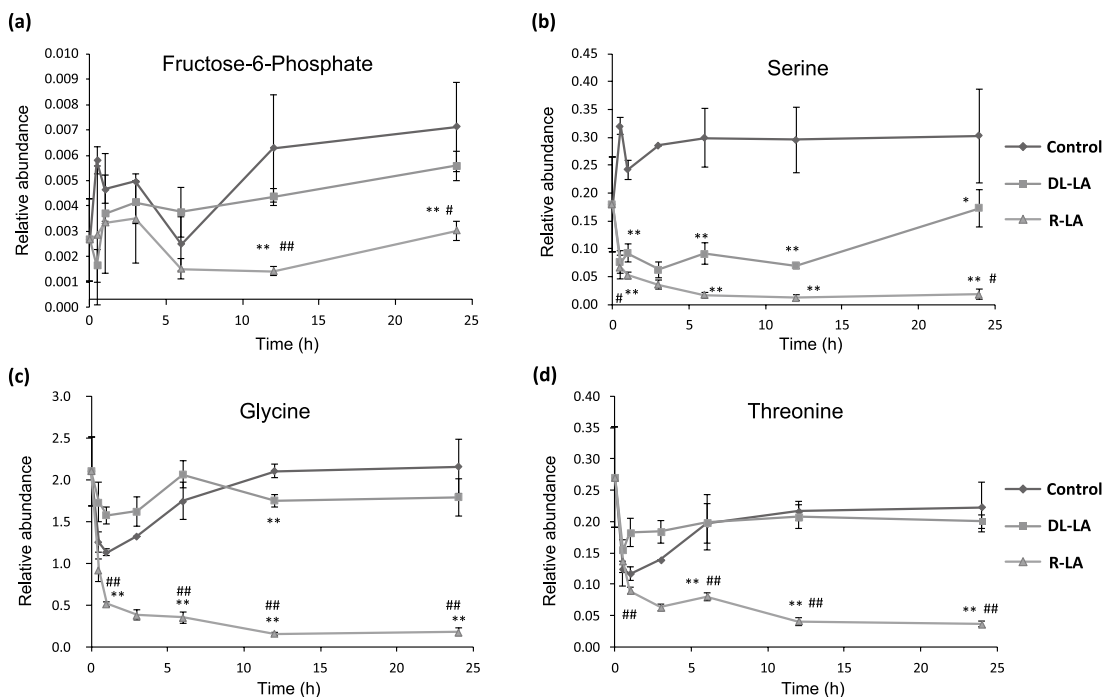


図7 リポ酸処理後のラット肝がん由来 H4IIEC3 培養細胞中の代謝物、フルクトース-6 リン酸 (a), セリン (b), グリシン (c), およびトレオニン (d) の時間的推移

DL-LA : ラセミ体の α -リポ酸, R-LA : R- α -リポ酸

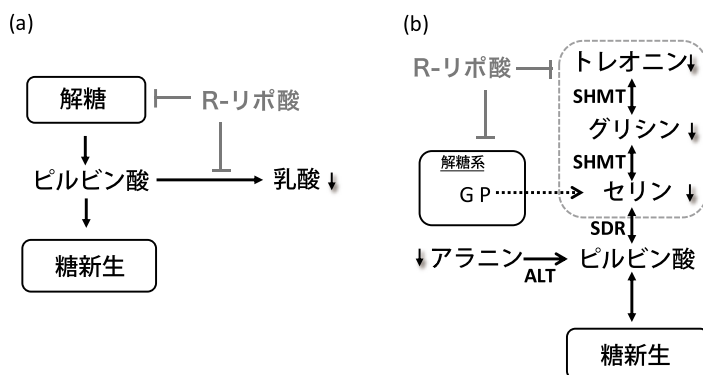


図8 R- α -リポ酸の解糖 (a) およびトレオニン - グリシン - セリン経路 (b) への作用

GP: 3-ホスホグリセリン酸, SHMT: セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ, SDR: セリン脱水素酵素, ALT: アラニンアミノ基転移酵素

謝物のバランスはラセミ体と R 体で異なることが示された (図 7)。我々の行った水溶性代謝物のメタボローム解析の結果, R- リポ酸はグルコースを欠乏させた H4IIEC3 細胞において, 解糖とアミノ酸代謝経路の一部 (トレオニン - グリシン - セリン経路) およびピルビン酸からの乳酸産生を抑制することが分かった (図 8)。一方, ラセミ体の α - リポ酸にはその作用は観察されなかった。細胞のエナント選択性を示す実験結果が得られたことは非常に意義がある。また, このことは, これまでに報告されていた α - リポ酸が肝がん細胞のアポトーシスを誘導するメカニズムを説明しうる結果であると筆者らは考えている,

おわりに

本稿では, 1930 年代から始まったリポ酸研究の歴史を振り返り, 代替医療素材としての α - リポ酸に着目して, その化学や生理活性について概説した。リポ酸は当初, その非常に強

い抗酸化活性が着目され, リポ酸がもつ生理活性についてこれまで多くの研究がなされてきた。その理由として, リポ酸はジチオラン環という特徴的な五員環を有する小さな分子であり, その小さな分子が生体内で様々な機能を発揮する点に多くの関心が寄せられてきたからであろうと筆者らは考えている。近年では, 肥満・糖尿病・高血圧・脂質異常症などのいわゆる生活習慣病を有し, そこに酸化ストレスや炎症性サイトカイン, 鉄などのヒットが加わると発症するとされる非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) に対するリポ酸の効果についての報告例⁶⁶⁾もあり, リポ酸は酸化ストレスや炎症に関わる様々な疾病の予防あるいは改善に期待されていることがよくわかる。そのリポ酸の安定化技術が進歩し吸収性を改善することには大きな意義があり, それによって代替医療に応用しやすくなることが期待される。尚, 記述には万全を期したつもりであるが, 筆者らの力不足等の箇所があれば遠慮なくご指摘頂ければ幸いである。

引用文献

1. Reed, L. J., DeBusk, B. G., Gunsalus, I. C., Hornberger, C. S.: Crystalline α -lipoic acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science*, **114**: 93-94. 1951.
2. Reed, L. J.: The chemistry and function of lipoic acid. *Adv. Enzymol.*, **18**: 319-347. 1957.
3. リポ酸. ビタミン学Ⅱ 水溶性ビタミン. 日本ビタミン学会編. 東京化学同人, 601-614. 1980.
4. 抗酸化活性を持つリポ酸の科学—背景と概説—, *New Food Industry*, **47**: 1-14. 2005.
5. 生理活性物質リポ酸の科学と応用, *New Food Industry*, **55** (7): 1-17. 2013.
6. リポ酸の Akt シグナル活性化による中枢神経保護作用機構, *New Food Industry*, **56** (4): 35-43. 2014.
7. 長倉三郎, 井口洋夫, 江沢洋, 他: リポ酸. 岩波理化学辞典 (第五版). 久保亮五編集. 岩波書店, 1450. 1998.
8. リポ酸. 化学大辞典. 化学大辞典編集委員会編. 共立出版, 634. 1987.
9. Houk, J., Whitesides, G. M.: Structure-reactivity relations for thiol-disulfide interchange. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**: 6825-6836. 1987.
10. Singh, R., Whitesides, G. M.: Comparisons of rate constants for thiolate-disulfide interchange in water and in polar aprotic solvents using dynamic proton NMR line shape analysis. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**: 1190-1197. 1990.
11. Matsugo, S., Han, D., Tritschler, H. J., *et al.*: Decomposition of α -lipoic acid derivatives by photoirradiation: formation of dihydrolipoic acid from α -lipoic acid. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **38**: 51-59. 1996.
12. 例えば レーニンジャーの新生化学[下] 第5版. 監修/山科郁男・川寄敏祐, 編集/中山和久, 廣川書店, 895-930. 平成 22 年.
13. Jordan, S. W., Cronan, J. E. Jr.: Biosynthesis of lipoic acid and posttranslational modification with lipoic acid in *Escherichia coli*. *Methods Enzymol.*, **279**: 176-183. 1997.
14. Leach, F. R.: Lipoic acid transport. *Methods Enzymol.*, **18**: 276-281. 1970.
15. Patel, M. S., Smith, R. L.: The evolution of antioxidants in modern medicine. *Hippocrates Verlag Stuttgart*, 65-77. 1994.
16. Wada, H., Shintani, D., Ohlrogge, J.: Why do mitochondria synthesize fatty acids? Evidence for involvement in lipoic acid production. *J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 1591-1596. 1997.
17. Morikawa, T., Yasuo, R., Wada, H.: Do mammalian cells synthesize lipoic acid?: Identification of a mouse cDNA encoding a lipoic acid synthase located in mitochondria. *FEBS Lett.*, **498**: 16-21. 2001.
18. Hermann, R., Niebch, G., Borbe, H. O., *et al.*: Enantioselective pharmacokinetics and bioavailability of different racemic α -lipoic acid formulations in healthy volunteers. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **4**: 167-174. 1996.
19. Niebch, G., Buchele, B., Blome, J., *et al.*: Enantioselective high-performance liquid chromatography assay of (+) R- and (-)S- α -lipoic acid in human plasma. *Chirality*, **9**: 32-36. 1997.
20. Hermann, R., Wildgrube, H. J., Ruus, P., *et al.*: Gastric emptying in patients with insulin dependent diabetes mellitus and bioavailability of thioctic acid-enantiomers. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **6**: 27-37. 1998.
21. Keith, D. J., Butler, J. A., Bemer, B., *et al.*: Age and gender dependent bioavailability of R- and R,S- α -lipoic acid: A pilot study. *Pharmacol. Res.*, **66**: 199-206. 2012.
22. Harrison, E. H., McCormick, D. B.: The metabolism of dl-(1,6- 14 C) lipoic acid in the rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, **160**: 514-522. 1974.
23. Furr, H. C., Chang, H. H., McCormick, D. B.: Lipoate metabolism in *Pseudomonas putida* LP: thiolsulfonates of lipoate and bisnorlipoate. *Arch. Biochem. Biophys.*, **185**: 576-583. 1978.
24. Löffelhardt, S., Bonaventura, C., Locher, M., *et al.*: Interaction of α -lipoic acid enantiomers and homologues with the enzyme components of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem. Pharmacol.*, **50**: 637-646. 1995.
25. Biewenga, G. P., Haenen, G. R., Bast, A.: The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmacol.*, **29**: 315-331. 1997.
26. Stary, F. E., Jindal, S. J., Murray, R. W.: Oxidation of α -lipoic acid. *J. Org. Chem.*, **40**: 58-62. 1975.
27. Biewenga, G. P., Bast, A.: Lipoic acid favors thiolsulfonate formation after hypochlorous acid scavenging: a study

- with lipoic acid derivatives. *Arch. Biochem. Biophys.*, **312**: 114-120. 1994.
28. Schupke, H., Peter, G., Hermann, R., *et al.*: New metabolic pathways of alpha-lipoic acid. *Drug Metabol. Dispos.*, **29**: 855-862. 2001.
29. Teichert, J., Preiss, R. J.: High-performance liquid chromatographic assay for alpha-lipoic acid and five of its metabolites in human plasma and urine. *J. Chromatography B*, **769**: 269-281. 2002.
30. Gleiter, C. H., Schug, B. S., Hermann, R., *et al.*, Influence of food intake on the bioavailability of thioctic acid enantiomers. *Eur. J. Pharmacol.*, **50**: 513. 1996.
31. Breithaupt-Grögler, K., Niebch, G., Schneider, E., *et al.*: Dose-proportionality of oral thioctic acid—Coincidence of assessments via pooled plasma and individual data. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **8**: 57. 1999.
32. Teichert, J., Tuemmers, T., Achenbach, H., *et al.*: Pharmacokinetics of alpha-lipoic acid in subjects with severe kidney damage and end-stage renal disease. *J. Clin. Pharmacol.*, **45**: 313. 2005.
33. Ziegler, D., Schatz, H., Conrad, F., *et al.*: Effects of treatment with the antioxidant α -lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients: A 4-month randomized controlled multicenter trial (DEKAN Study). *Diabetes Care*, **20**: 369. 1997.
34. Reljanovic, M., Reichel, G., Rett, K., *et al.*: Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (α -lipoic acid): A two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). *Free Radic. Res.*, **31**: 171. 1999.
35. Uchida, R., Okamoto, H., Ikuta, N *et al.*: Enantioselective pharmacokinetics of α -lipoic acid in rats. *Int. J. Mol. Sci.*, **16**: 22781. 2015.
36. Carlson, D. A., Smith, A. R., Fischer, S. J. *et al.*: The plasma pharmacokinetics of R-(+)-lipoic acid administered as sodium R-(+)-lipoate to healthy human subjects. *Altern. Med. Rev.*, **12**: 343. 2007.
37. Ikuta, N., Sugiyama, H., Shimosegawa, H., *et al.*: Analysis of the enhanced stability of R-(+)-alpha lipoic acid by the complex formation with cyclodextrins. *Int. J. Mol. Sci.*, **14**: 3639-3655. 2013.
38. Uchida, R., Iwamoto, K., Nagayama, S., *et al.*: Effect of γ -cyclodextrin inclusion complex on the absorption of R- α -lipoic acid in rats. *Int. J. Mol. Sci.*, **16**: 10105. 2015.
39. Ikuta, N., Okamoto, H., Furune, T., *et al.*: Bioavailability of an R- α -lipoic acid/ γ -cyclodextrin complex in healthy volunteers. *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(6): 949. 2016.
40. Rosenberg, H. R., Culik, R.: Effect of α -lipoic acid on vitamin C and vitamin E deficiencies. *Arch. Biochem. Biophys.*, **80**: 86-93. 1959.
41. Jorg, J., Metz, F., Scharafinsky, H.: Drug treatment of diabetic polyneuropathy with alpha-lipoic acid or vitamin B preparations. A clinical and neurophysiologic study. *Nervenartz.*, **59**: 36-44. 1988.
42. Altenkirch, H., Stoltenburg-Didinger, G., Wagner, H. M., *et al.*: Effects of lipoic acid in hexacarbon-induced neuropathy. *Neurotoxicol. Treat.*, **12**: 619-622. 1990.
43. Prehn, J. H. M., Karkoutly, C., Nuglisch, J., *et al.*: Dihydrolipoate reduces neuronal injury after cerebral ischemia. *J. Cer. Blood Flow Metabol.*, **12**: 78-87. 1992.
44. Scott, E. M., Duncan, I. W., Ekstrand, V.: Purification and properties of glutathione reductase of human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **238**: 3928-3939. 1963.
45. Burton, G. W., Ingold, K. U.: Antioxidation of biological molecules 1. Antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants *in vitro*. *J. Am. Chem. Soc.*, **103**: 6472-6477. 1981.
46. Sies, H., Eyr, J.: Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.*, **215**: 213-219. 1993.
47. Packer, L.: New horizons in antioxidant research: Action of the thioctic acid / dihydrolipoic acid couple in biological systems. International thioctic acid-workshop 2, *Universimid Verlag*, 35-45. 1992.
48. Scholich, H., Murphy, M. E., Sies, H: Antioxidant activity of dihydrolipoate against microsomal lipid peroxidation and its dependence on alpha-tocopherol. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1001**: 256-261. 1989.
49. Bast, A., Haenen, G. R.: Regulation of lipid peroxidation of glutathione and lipoic acid: Involvement of liver microsomal vitamin E free radical reductase. In antioxidant in therapy and preventive medicine, Emerit, I., Packer,

- L., Auclair, C., eds., Plenum Press, NY, 111-116. 1990.
50. Busse, E., Zimmer, G., Schopohl, B., Kornhuber, B.: Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione *in vitro* and *in vivo*. *Arzneimittel-Forschung*, **42**: 829-831. 1992.
51. Han, D., Tritschler, H. J., Packer, L.: Alpha-lipoic acid increases intracellular glutathione in human t-lymphocyte jurkat cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **207**: 258-264. 1995.
52. Kagan, V. E., Shredova, A., Serbinova, E. A., *et al.*: Dihydrolipoic acid-a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.*, **44**: 1637-1649. 1992.
53. Kagan, V. E., Serbinova, E. A., Forte, T., *et al.*: Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J. Lipid Res.*, **33**: 385-397. 1992.
54. Constanninescu, A., Han, D., Packer, L.: Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J. Biol. Chem.*, **268**: 10906-10913. 1993.
55. Saengsirisuwan, V., Perez, F. R., Sloniger, J. A., *et al.*: Interactions of exercise training and α -lipoic acid on insulin signaling in skeletal muscle of obese Zucker rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **287**: E529. 2004.
56. Yaworsky, K., Somwar, R., Ramlal, T., *et al.*: Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by α -lipoic acid in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*, **43**: 294. 2003.
57. Konrad, D., Somwar, R., Sweeney, G., *et al.*: The antihyperglycemic drug α -lipoic acid stimulates glucose uptake via both GLUT4 translocation and GLUT4 activation. *Diabetes*, **50**: 1464. 2001.
58. Konard, D.: Utilization of the insulin-signaling network in the metabolic actions of α -lipoic acid-reduction or oxidation? *Antioxid. Redox. Signal.*, **7**: 1032. 2005.
59. Moini, H., Packer, L., Saris, Nils-Erik L.: Antioxidant and prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **182**: 84. 2002.
60. Maddux, B.A., See, W., Lawrence, J. C. Jr., *et al.*: Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of α -lipoic acid. *Diabetes*, **50**: 404. 2001.
61. Blair, A.S., Hajdich, E., Litherland, G. J., *et al.*: Regulation of glucose transport and glycogen synthesis in L6 muscle cells during oxidative stress: Evidence for cross-talk between the insulin and SAPK2/p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, **274**: 36293. 1999.
62. Tibullo, D., Volti, G. L., Giallongo, C., *et al.*: Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential. *Inflamm. Res.*, **66**: 947. 2017.
63. Wang, Y., Li, X., Guo, Y., *et al.*: α -lipoic acid increases energy expenditure by enhancing adenosine monophosphate-activated protein kinase-peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α signaling in the skeletal muscle of aged mice. *Metabolism-Clinical and Experimental*, **59**: 967. 2010.
64. Nikolai, S., Huebbe, P., Metges, C. C., *et al.*: R- α -lipoic acid γ -cyclodextrin complex increases energy expenditure: A 4-month feeding study in mice. *Nutrition*, **30**: 228. 2014.
65. Ikuta, N., Chikamoto, K., Asano, Y., *et al.*: Time course effect of R-alpha-lipoic acid on cellular metabolomics in cultured hepatoma cells. *J. Med. Food*, **20**(3): 211. 2017.
66. Min, A.K., Kim, M.K., Kim, H.S., *et al.*: Alpha-lipoic acid attenuates methionine choline deficient diet-induced steatohepatitis in C57BL/6 mice. *Life Sciences*, **90**: 200-205. 2012.

連絡先：生田 直子 (Naoko Ikuta)
 神戸大学大学院医学研究科 医薬食品評価科学分野
 〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-2
 TEL 078-382-5111 (代表)
 e-mail: naoko.ikuta@people.kobe-u.ac.jp

L- カルニチンとセルフメディケーション

王堂 哲 (ODO Satoshi)*

* 和洋女子大学家政学部客員教授, ロンザジャパン株式会社顧問

Key Words : L- カルニチン エネルギー代謝 ミトコンドリア 筋肉 中枢神経 高齢者 セルフ
メディケーション

L-Carnitine on self-medication

Satoshi Odo*

*Faculty of Human Ecology, Wayo Women's University; visiting professor, Lonza Japan Ltd.; consultant

Key Words: L-carnitine, energy metabolism, mitochondria, muscle, central nervous system, elderly population,
self-medication

Abstract

L-carnitine is a water soluble amino acid derivative distributed mainly in muscle tissue. It shuttles fuel long chain fatty acids into mitochondrial matrix through its highly selective inner membrane to be catabolized on β -oxidation. The molecule is endogenously synthesized from protein bound L-lysine in specific organs, liver, kidney *etc.* About 50 – 75 % of amount vs. total requirement is supplied by daily diets such as lean meats. L-carnitine is provided not only as countermeasures on pharmaceutical area for congenital deficiency patients but also available as dietary supplements for diverse applications. Under the condition on excessive fat oxidation or acute glycolysis bring surplus acetyl CoA resulting in metabolic inertia caused by free CoA shortage. L-carnitine supplementation mitigates the stuck condition by forming acetylcarnitine to resume free CoA status. L-carnitine may give health benefits on diverse situations: metabolic syndrome, athletes, elderly populations, weight management program *etc.* It was reported on Japanese subjects that 500 mg of daily dosage for four weeks brought significant weight loss when favorable motivation training was accompanied. Recent researches show L-carnitine reduces muscle soreness after strenuous exercise on wide range of subjects, e.g. untrained middle aged population and athlete as well through reducing damages from reactive oxygen species (ROS) being generated from xanthine oxidase process. Also many studies demonstrate effects of L-carnitine on moderating oxidative stresses through activating endogenous enzymes such as SOD and / or glutathione peroxidase *etc.* which are responsible for ROS quenching events. A part of L-carnitine is converted into acetylcarnitine to facilitate acetylcholine turnover in central nervous system synaptic area to improve cognitive capabilities. As body content of the substance decreases along with aging, L-carnitine supplementation may give benefits to elderly people both on physical and mental aspects. In sum, L-carnitine could be one of the efficient tools on self-medications in wide variety of people.

*To whom correspondence should be addressed.

Lonza Japan Ltd.

39 F, St Luke's Tower, 8-1, Akashi-cho, Chuo-ku, Tokyo 104-6591 Japan

e-mail: satoshi.odo@lonza.com

はじめに

— L- カルニチンとは？ —

1905 年ロシアおよびドイツの研究グループは肉汁の中にドラージェンドルフ試薬と反応して有色の沈殿を生じるアミン成分の存在を各々独立に見出した。その物質はラテン語の肉を意味する “carnis- “にちなんで carnitine (カルニチン) と名付けられた¹⁾。22 年後の 1927 年, 基本的な化学構造 (分子量 161.2) が日本人研究者 (Tomita and Sendju) によって決定された²⁾。1943 年, Fraenkel らはチャイロコメノゴミムシダマシという昆虫 (ミールワームとも呼ばれ生物実験によく用いられる) の幼虫の必須成長因子を発見しその学名 (*Tenebrio molitor*) に因んでビタミン B₁₁ と命名したが³⁾, その 9 年後にはこの成分がカルニチンであること⁴⁾, さらに天然に存在するカルニチンはその立体配位が L 体であることが報告された⁵⁾ (図 1)。1960 年代の中盤にかけてはこの分子の担う生理的な主作用が長鎖脂肪酸のミトコンドリア膜内への運搬にあることなど今日知られている基礎的な生化学機能の概要が明らかにされた。以降数十年を経て今なお L- カルニチンは生化学者, 医学者, 栄養学者ら幅広い研究者の興味を惹き続け, 脂質エネルギー代謝のみならず AIDS, アルツハイマー病, 心筋障害, 脳梗塞, 糖尿病, 肥満症などの諸疾患に対する投与効果をはじめ免疫系, 抗酸化, 抗炎症に対する作用, 健全な母体の周産期や精子性状の維持, スポーツ栄養, 畜産分野への応用など多様な研究が進められている。

1. L- カルニチンの体内分布

L- カルニチンは微生物, 動植物などほぼあらゆる生物に分布している。ミールワームの成長因子として発見された当初は動物の体内ではつくられない水溶性ビタミンの一種であるとみなされたが, その後生合成される成分であることがわかり現在ではビタミン様物質 (条件付き必須栄養素 conditionally essential nutrient) と位置付けられている。ちなみに米国 CRC

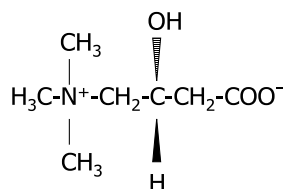


図 1 L- カルニチンの構造

表 1 ヒトの主要臓器における L- カルニチンの分布

主要臓器	mg/kg	全身量 (mg)
骨格筋	640	10,000
肝 臓	470	650
心 臓	770	220
腎 臓	160	60
脳	50	80
血 漿	8	30

Press から発刊されている頻用便覧『ビタミンハンドブック』 (“*Handbook of Vitamins*”) において「ビタミン様物質」の項には 4 種の成分 (コリン, イノシトール, タウリン, L- カルニチン) が記載されている。

ヒト体内における L- カルニチンの分布は表 1 に示す通り全身に及んでいるが量的に突出しているのは筋肉 (骨格筋) であり, 全体の 90 パーセント以上を占めている。血中での存在量は 1 パーセント未満にすぎないがその動態については種々の研究がある。日本人の血中濃度に関する Takiyama らの報告⁶⁾ によれば新生児では成人の数十パーセント, その後徐々に増加し男性成人 (15 ~ 65 歳) $50.3 \pm 7.5 \mu\text{M}$, 女性成人 (15 ~ 50 歳) $41.2 \pm 7.5 \mu\text{M}$ であり性差間には有意差が認められている (図 2-(a))。一方 L- カルニチンの生理的誘導体であるアセチルカルニチンは生涯を通じて性差もなく (およそ $15 \mu\text{M}$), 極めて厳密な恒常性が保たれている (図 2-(b))。このアセチルカルニチンは糖質および脂質エネルギー代謝の分岐点に位置するアセチル CoA からカルニチンアセチル転移酵素によって生成する (後述)。そのためアセチルカルニチンは, ミトコンドリア内に局在しながらエネルギー産生状態に応じて時々刻々増減

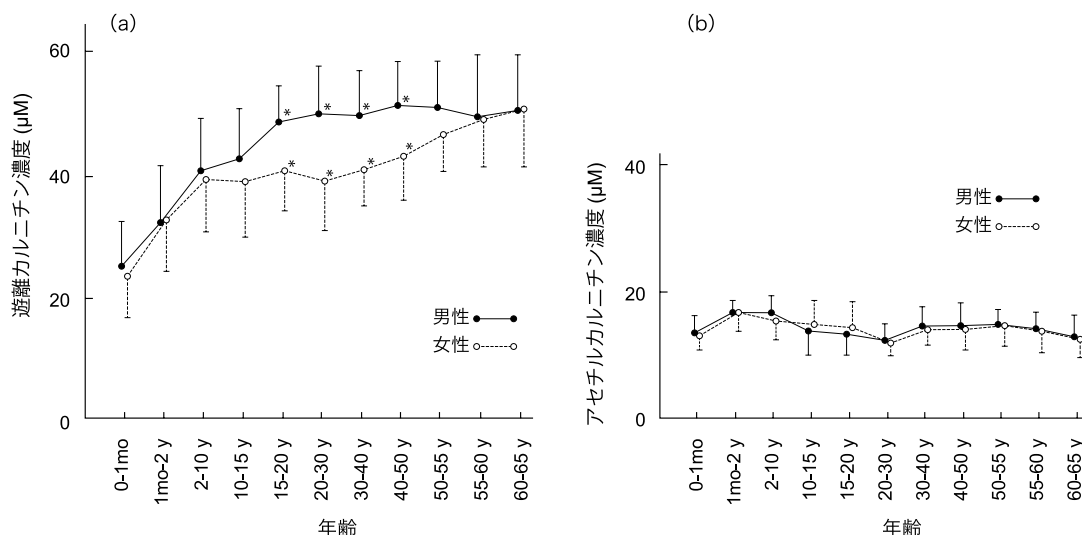


図2 L-カルニチン、アセチルカルニチン血中濃度の生涯変動⁶⁾ (日本人)

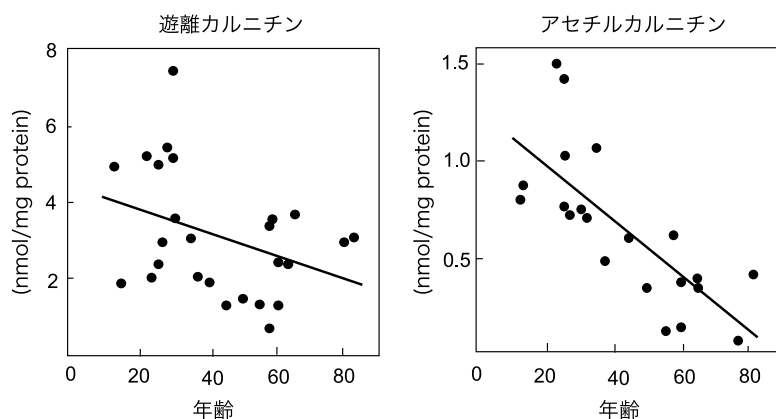


図3 L-カルニチンの筋中濃度は加齢に従い減少する⁷⁾

するアセチル CoA の変動をリアルタイムに反映するバイオマーカーとして利用し得る可能性が考えられている。Kuratsune らは c 型肝炎や慢性疲労症候群患者では血中アセチルカルニチン濃度が健常者に比べ有意に低下していることを報告している⁷⁾。Costell らは種々年代のヒト筋肉中の L-カルニチン濃度について調べ、遊離カルニチン、アセチルカルニチンの双方が加齢とともに減少する傾向があることを見出している (図 3)⁸⁾。

2. 食品中の含有量

種々な食材に含有されている L-カルニチン

量を表 2 に示す。この成分を最も豊富に含んでいるのはヒツジ、ヤギ、ウシなど偶蹄類の筋肉である。牧草のみならず一般に植物中の L-カルニチン含量が非常に少ないことからこれら草食動物における生合成能力の大きさがうかがわれる。彼ら草食動物が牧草を求めての長距離移動力に富んでいること、また基本的に多産であることなどは L-カルニチンの機能からみても示唆的である。一方、ブタや家鴨など雑食の食性の動物のもつ L-カルニチン含量は草食類のその数分の一のレベルである。ちなみにヒトの筋肉中濃度は数百 mg/kg であるが、このレベルは我々が基本的に雑食

表 2. 種々な食材に含まれる L-カルニチン量

A 1,000 mg/kg <		B 100 ~ 500 mg/kg		C < 100 mg/kg		
Goat 山羊	2,210	Ground beef 挽き肉	470	Veal liver 牛レバー	92	
Leg of lamb 羊	1,900	boar 猪	420	Chicken leg 鶏もも	80	
Kangaroo カンガルー	1,660	Sausage ソーセージ	386	Chicken breast 鶏胸	78	
Deer 鹿	1,500	Corned beef コンビーフ	320	Eel 鰻	65	
Beef roast 牛	1,430	Breast of duck 家鴨	288	Duck liver 家鴨レバー	43	
Ostrich 駝鳥	1,280	Lobster ロブスター	270	Caviar キャビア	37	
Hare 野兎	1,200	Pork 豚	244	Pork liver 豚レバー	36	
Horsemeat 馬肉	1,170	Oysters 牡蠣	243	Mackerel 鯖	32	
Veal schnitzel 仔牛	1,050	Breast of squab 雛鳥	211	Salmon 鮭	31	
Roast beef ロースト牛	1,010	Lean smoked ham ハム	205	Mussels ムール貝	28	
		Pork filet 豚ヒレ	190	Octopus 蛸	21	
		Langouste 伊勢海老	154	野菜・果実類	Pasta パスタ	7
		Turkey 七面鳥	133		Almonds アーモンド	6.7
					Broccoli ブロッコリー	4.8
					Wheat bread パン	3.5
					Eggplant ナス	3.0
				Rice 米	3.0	
				Tomatoes トマト	1.1	
				Beer ビール	0.6	
				Oranges オレンジ	0.1	

※ ヒト: 640 mg/kg

性の動物であることと矛盾しない。

3. 食事からの摂取

食材中の含有量およびそれらの喫食量のデータをもとにすれば、ある個人や国民・民族などが一日に食事から得ている L-カルニチン量の概数を見積もることができる。筆者らの算定によれば羊肉消費の多いモンゴル、オセアニア諸国の国民で一日あたり 300 ~ 400 mg、欧米で 100 ~ 250 mg、インドや日本では 50 mg 以下であった。屈強な力士を輩出することで有名なモンゴルでは、病気療養中や疲労時、産後の肥立ちなどに羊の煮汁（シュースとよばれる）を摂ることが励行されている⁹⁾。医食同源を旨とする古来の中国の食養生ではさまざまな食材が「からだを温めるもの」と「冷やすもの」に分類されている。それによればヒツジやウシなどの食材はほぼ「温めるもの」に集中している。このことは古代中国の人々が膨大な食経験をともに組み上げた食体系の一側面が「L-カルニ

チンの脂肪燃焼効果」を暗示しているようでもあり興味深い。わが国では食の欧米化が言われて久しいが、L-カルニチンに関しては日本人の一日摂取量は世界で最も少ない部類に属している。世界最長ランクの寿命をもつ日本人としては和食の良さを保ちながら時折の羊肉料理（近年物流の発達で非常に新鮮美味な羊肉が流通するようになった）、サプリメントや機能性食品などの形で L-カルニチンが補えればより高い QOL を伴った健康寿命の延伸が期待されるのではないと思われる。

菜食主義者の日常食からの L-カルニチン摂取量は相応に少ない。そこから推定されたとおりそれらの人々の血中 L-カルニチン濃度は低いことが多数報告されている¹⁰⁾。また肉類の摂取が制限される慢性腎炎、処置の度に血中カルニチンの 75% が失われる人工透析患者などの医療現場では適正な外部補給が重要となる¹¹⁾。

4. L- カルニチンの生合成

図4に示す通り L- カルニチンの生合成ではタンパク質に結合した状態のリジン残基が出発原料となっており、その遊離アミノ基態窒素分子を基質として S- アデノシルメチオニンによるトリメチル化反応がおこる¹²⁾。その後、5つの反応過程を経て L- カルニチンに至る。最終中間体である γ - ブチロベタインまでの合成は筋肉など多くの臓器で行われるが、 γ - ブチロベタインを L- カルニチンに変換する酵素 (γ - ブチロベタイン水酸化酵素) は肝臓、腎臓、脳など限られた臓器にのみ存在する。主に肝臓、腎臓で合成された L- カルニチンは血流を介して骨格筋、心筋など全身の臓器に分配される。この生合成経路にはビタミン C、鉄イオン、ビタミン B₆、B₂、B₁₂、葉酸、NAD などのビタミンや補酵素が必要である。実際これらの微量成分が欠乏することによって L- カルニチンが不足傾向に陥ることが知られている。なお L- カルニチンの外部摂取が本来の生合成に影響を与え

ることはない¹³⁾。

5. 摂取量と生合成量の割合、吸収率

一日に身体が要求する L- カルニチンのうちのどれだけの割合が食事など外部補給に依存するかという点については国や民族、個々人による食性のちがいから一律ではないが「およそ数十パーセント」と考えるのが妥当である。L- カルニチンは主に小腸から吸収される。吸収率は摂取量が少ないほど高まる。これはこの成分がそれに特有な Na⁺ 依存型トランスポーター (OCTN2) を介して能動輸送されることによる¹⁴⁾ (付記：このトランスポーターは金沢大学薬学部 の辻らによる粘り強い究明の末発見されたものであり、L- カルニチン研究の進展に世界的な影響を与えた)。摂取量がトランスポーターの受容余力を上回る場合には受動拡散輸送がおこるがその透過率は低い。能動輸送の場合には 54-87 %¹⁵⁾、63-75 %¹⁶⁾ などの数値があり、摂取量が 2,000 mg では 20 % にまで低

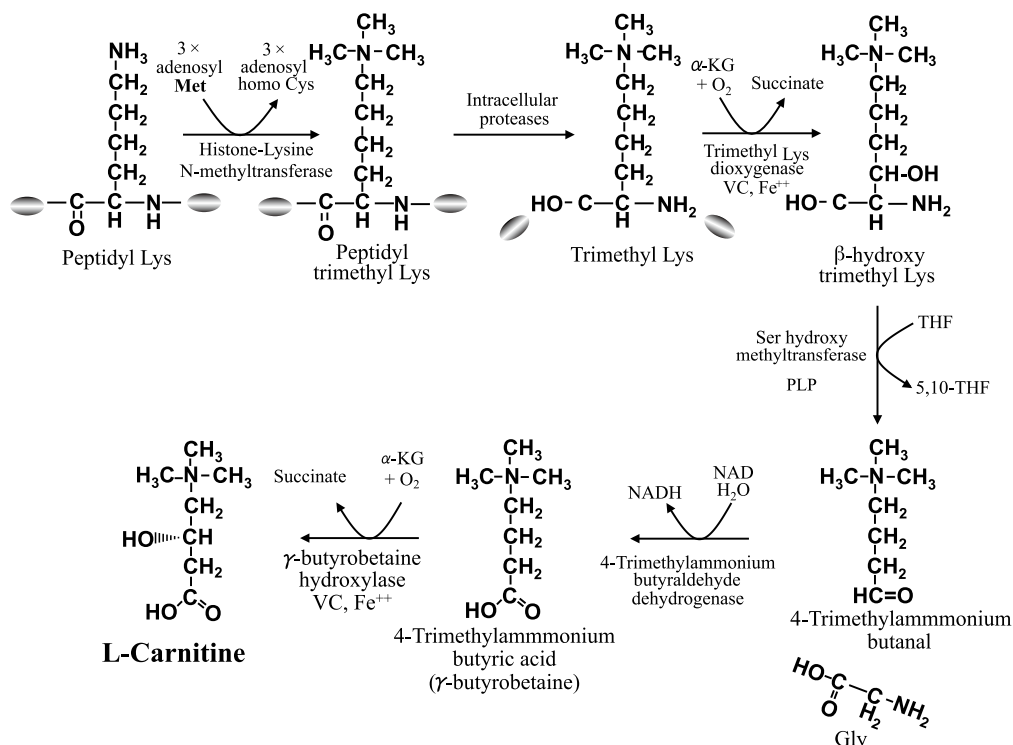


図4 L- カルニチンの生合成ルート

下する。天与の身体的设计からすれば本来食肉などに含有される低濃度のL-カルニチン(高々200 mg/100 g程度)を捕捉するためのしくみであるから大用量の摂取で吸収率が見掛け上低下することは想像に難くない。したがって吸収率からみた摂取要領としては一度に大量に摂取するよりも少量を複数回に分けて摂る方法が好都合といえる。日本では厚生労働省により一日摂取の上限目安が1,000 mgと示されていることから、吸収率に関していえば比較的高い吸収効果が得られるレベルである。

日本人被験者を対象として行った摂取試験では摂取後遅くとも30分で遊離カルニチンの血中濃度は上昇しはじめ4～7時間になだらかなピークが生じた後緩やかに低下する。シャープなピークが生じない理由は摂取したL-カルニチンが小腸、門脈、肝臓から体循環に至り、腎排泄、腎再吸収(再吸収率は98%以上)を経て静脈血に移行する際すでにその通過の過程で体細胞に広範に移行するもの、体細胞から逆に血中に分泌されるものが混在しているためと考えられる。

摂取したL-カルニチンの体内での滞留時間は体重70 kgの成人筋肉で105時間、心筋で21時間、脳で223時間という報告がある¹⁷⁾。一方FuruichiらはL-カルニチンのトランスポーターOCTN2が筋収縮や弛緩に伴い細胞膜での極めて俊敏な発現変化を示すこと、またその発現の度合いはヒラメ筋、足底筋、腓腹筋など筋肉の性質によって異なることを見出している¹⁸⁾。したがって、L-カルニチンの体内動態を考えるとときにはどの筋について、どのような状態や時間軸に着目するかに留意を要する。

6. L-カルニチン欠乏症と健常人における摂取対象

わが国では日本小児科学会からL-カルニチンの欠乏症に関して治療指針が示されている¹⁹⁾。欠乏症には大別して主として小児科領域で問題となる先天的なものと、人工透析やある種の抗生物質(バルプロ酸など)を長期投与した場合

に起こり得る2次性のものがある。治療指針に示されている内容は医療領域での運用が目的とされており本稿の範囲を外れるため詳細については直接原著を参照されたい。

健常人が食品として摂取するL-カルニチンを考える場合にはたとえば以下のようなケースが対象となり得る。

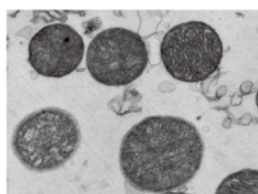
- ①メタボリックシンドロームおよびその予備軍層
- ②過体重から適正体重を目指したい場合
- ③高齢者
- ④ベジタリアン
- ⑤周産期の女性
- ⑥精子性状に懸念のある男性
- ⑦アスリートまたはスポーツ愛好者

7. L-カルニチンの基本機能(1)

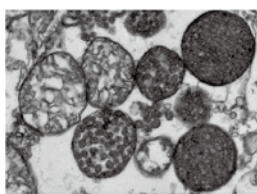
— 長鎖脂肪酸をミトコンドリアへ —

脂質(脂肪酸)と糖質(グルコース)はヒトにとっての2大エネルギー源である。このうちグルコースは備蓄量が限られているが、水溶性であり水で満たされた血液や細胞質にはなじみやすい手軽な燃料である。それに対し脂肪はほぼ無制限に体内に備蓄し得るメリットを有するものの、本来体液とは相容れないため通常はグリセリンエステルとして貯蔵され輸送に際してはタンパク質に包み込まれた形(リポタンパク質、カイロミクロン複合体)で存在している。したがってこれを燃料として使いこなすためには糖質よりも多くの手順が必要となる。特に細胞の中の発電所にあたるミトコンドリアの内部は活性酸素が飛び交う「危険区域」であるため物質の出入りは内膜の高い透過選択性によって厳重に制御されている。燃料としての脂肪は最終的には「剥き出しの遊離脂肪酸分子」としてミトコンドリアマトリクスに到達する必要があるが、それ自身が界面活性をもっているため繊細なミトコンドリア膜に接触するとその構造自体が破たんしてしまう(図5)²⁰⁾。そこでL-カルニチンはミトコンドリア内膜の手前で転移酵素(CPT-1)によって遊離脂肪酸(アシル基)を受け取りアシルカルニチンとなる。この形で

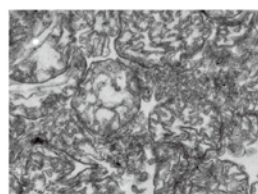
L - カルニチンなし



Time 0

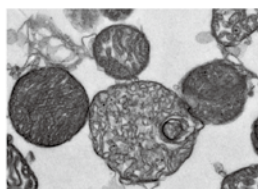


オレイン酸添加後 3min

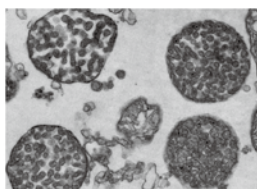


オレイン酸添加後 10min

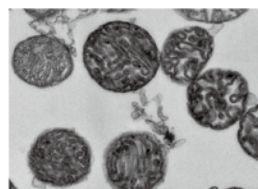
L - カルニチン共存時



Time 0



オレイン酸添加後 3min



オレイン酸添加後 10min

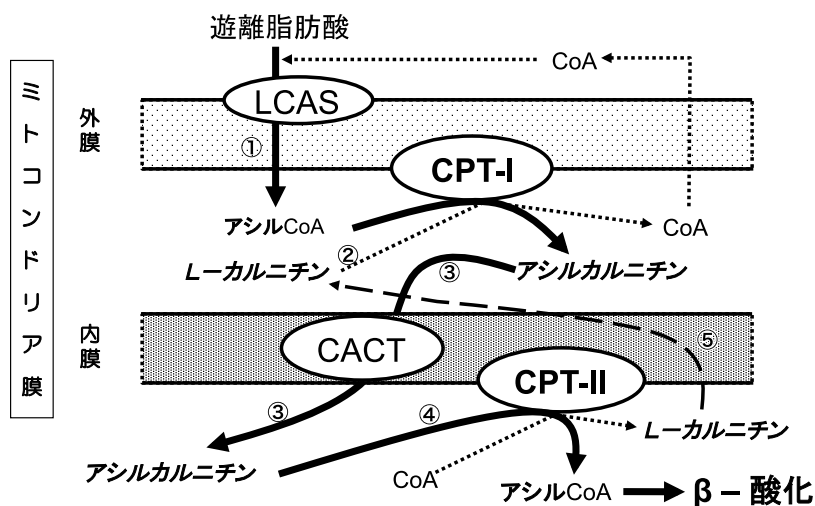
図5 L-カルニチンによる脂肪酸ミトコンドリア保護作用²⁰⁾

図6 L-カルニチンによる長鎖脂肪酸のミトコンドリアマトリクスへの移送

CPT - I : カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I, CPT - II : カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II,
LCAS : 長鎖脂肪酸活性化酵素, CACT : カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ

あれば内膜を通過することができる。通過し終えた L-カルニチンは再び脂肪酸分子を遊離させ自らはもとの位置（内膜と外膜の間隙）に回帰する。このように L-カルニチンはミトコンドリア膜を介した精密な手続きを経て行き来しながら過激な分子である長鎖脂肪酸を運搬している。このサイクル系は国際宇宙ステーションと地上を行き来して物資を運搬するスペース

シャトルにも似ているが、実際当該システムは「カルニチンシャトル（シャトル”shuttle”はもともと往復運動を繰り返す装置である機織り機の「杼（ひ）」という部品を意味する）」と呼ばれ L-カルニチンの最も基本的な生理機能と考えられている（図6）。

L-カルニチンを10日間経口摂取することによって脂肪燃焼が高まることが安定同位体標識

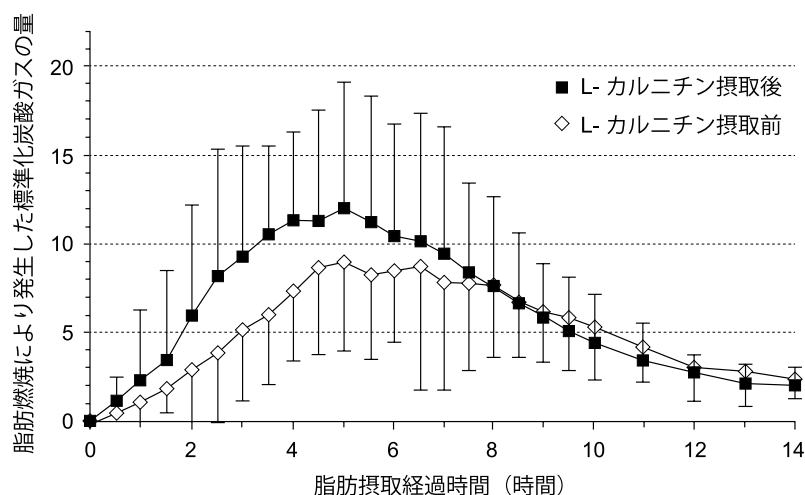


図7 L-カルニチン摂取による脂肪燃焼の促進（健常者ヒト試験）²¹⁾
L-カルニチンの10日間事前摂取により、その日に食べた脂肪酸の燃焼が高められた。

した脂肪酸を使ったヒト試験で証明されている（図7）²¹⁾。このカルニチンシャトル全体の回転速度を決めている調節酵素はCPT-1（カルニチンパルミトイル転移酵素-1）であるが、この酵素遺伝子の発現はTCAサイクルの中のクエン酸からつくられる脂肪酸合成の中間体（マロニル CoA）によって抑制される。即ち、クエン酸が過剰生成している状態がエネルギー余剰であるとみなされるためそれ以上無駄に燃料を消費しないようしくみが備わっているわけである。

8. L-カルニチンの基本機能（2）

— エネルギー代謝の渋滞緩和 —

ミトコンドリア内にもたらされた遊離脂肪酸はここで β -酸化を受ける。 β -酸化の最終代謝産物であるアセチル CoA はTCAサイクルのオキサロ酢酸と結合することで回路に組み込まれ、好氣的で巨大なエネルギー産生に向かう。一方アセチル CoA は解糖系（グルコース）からも生じる。つまりアセチル CoA は脂質からも糖質からもたらされるエネルギー代謝の交差点に位置する分子である。アセチル CoA がスムーズに生じてTCAサイクルへ移行しているときには何ら問題は起こらないが、ひとたび

これが過剰に生産されると遊離 CoA が不足してしまい代謝が渋滞してしまう。この渋滞はミトコンドリア内部でおこるが、ここにL-カルニチンが十分に存在すれば過剰なアセチル CoA からアセチル基を受け取ってアセチルカルニチンとなり血中に移行する。これによって遊離 CoA 量に余力が生まれると代謝の渋滞は緩和され円滑なエネルギー産生が再開される。このような働きは「L-カルニチンのアセチルバッファー作用」と呼ばれる（図8）。

アセチル CoA の渋滞が生じるケースとしては、非常に激しい運動を急激に行った場合、空腹時（飢餓時）が挙げられる。また糖尿病はグ

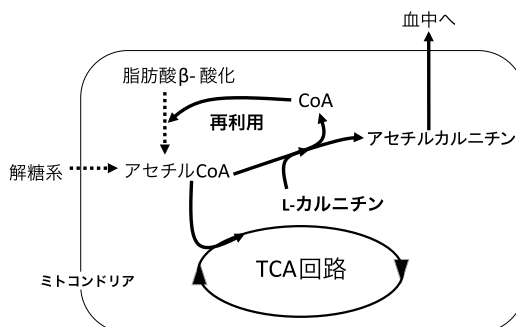


図8 L-カルニチンのアセチルバッファー作用
アセチル CoA の過剰蓄積による遊離 CoA の不足がアセチルカルニチンの生成によって再利用が促される。

ルコースの細胞内取り込みが不全に陥る結果糖質をエネルギー源として利用できなくなる疾病であるが、この場合のエネルギー調達には専ら脂肪酸の β -酸化によらねばならない。パルミチン酸など代表的な脂肪酸1分子が β -酸化をうけると8分子ものアセチル CoA が生じるので、ミトコンドリア内では慢性的に遊離 CoA のストックが不足し渋滞が起こりやすくなっている。米国 Duke 大学の Muoio らはアセチル転移酵素を欠いたノックアウトマウスを用いた試験ならびに糖尿病患者、培養細胞を用いた系統的な実験を通して理論通りの代謝の渋滞が起こること、またその渋滞状態が L- カルニチンの補給によって解消され、疲労感やグルコース耐性などが改善されることを示した^{22, 23)}。ここでは L- カルニチンが脂肪燃焼一辺倒ではなく交差点での交通整理のように糖質代謝とのバランスを整え、渋滞を緩和していることが重要である。

9. L- カルニチン摂取による健康効果

日本の健康食品市場で、ダイエットは一貫して最も人気のあるキーワードのひとつである。L- カルニチンには多様な働きがあるが、2002 年に食品成分として利用されるようになってから現在に至るまで「L- カルニチン効果」の認知はダイエットと最も強く結びついている。しかしながら本来阻害剤でもブロッカーでもない L- カルニチンを摂取することによって「人を選ばず時を選ばず無条件に痩せる」などというエビデンスがそれほど安直に得られるものではない。摂取によって体重が減少したとする論文はいくつか存在し、2016 年には RCT 試験についてメタアナリシスを伴うシステマティックレビューも発表されている²⁴⁾。その結果 L- カルニチンは減量に対して有効との結論が得られている（最終評価対象論文 9 件、総被験者数 911 人、摂取期間 30 ~ 360 日： $P=0.002$ ）。しかしながら、減量は食習慣や運動習慣の影響を受けやすい上、現状と目標の差もさまざまであ

る。また先のシステマティックレビューでの摂取量は 2 g/ 日以上のもが多く、日本で厚生省が一日摂取上限目安としている 1g を超えない用量での試験はほぼ見あたらない。

筆者らは軽度肥満の日本人男性被験者（BMI:25.8 - 26.6 kg/m²）を対象とし、500 mg/ 日の L- カルニチン（L- カルニチン酒石酸塩として 760 mg）を 4 週間摂取する試験を行った²⁵⁾。その際、生活習慣の違いによる影響を捨象することおよび生活習慣改善のモチベーションの有無がアウトカムに及ぼす影響を検討することとした。被験者をまず L- カルニチン摂取群（C 群）とプラセボ群（NC 群）に二重盲検的に分割した後、さらに各群をモチベーション喚起群（M 群）と無対応群（NM 群）に分割した。モチベーション喚起群（M 群）に対しては個別に 20 分間の面接を行い、L- カルニチンの作用機序についてポイントを説明した後、目標体重の設定、万歩計・体重計の貸し出しによる数値の記録などを行ってもらった。その結果「モチベーション喚起+L- カルニチン摂取（M/C）」を行った群が「無対応+プラセボ摂取（NM/NC）」群に対して有意な体重減少を示した（図 9）。また体重の変化は中性脂肪値の変化を反映してい

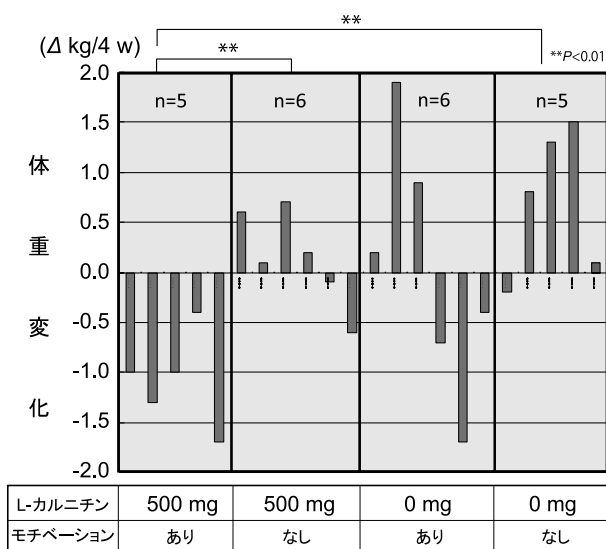


図9 L- カルニチン摂取による減量効果（モチベーション条件有無の比較）²⁵⁾

た。このようにL-カルニチン摂取効果は好ましい方向への行動変容を伴った場合により現れやすいこと、その変化は4週間で現れること、L-カルニチンの摂取量としては500 mg/日で効果が得られることなどが示された。

10. アスリートとL-カルニチン

L-カルニチンの摂取が脂肪燃焼を促進すること、脂肪エネルギーが持久運動に重要であること、このような観点からこれまでに多くのスポーツ関連のトライアルが行われてきた。とくに1985年から1998年までの十数年間は最も盛んにこの研究テーマがとりあげられた時期にあたる。アスリートを被験者とした論文は30余報に及ぶものの、呼気ガス分析によるエネルギー代謝や血中乳酸値の変化、運動出力などを指標として「何らかの有効性があった」とするものは全体の約3割強であった。つまり3つに2つは「摂取効果なし」としているわけである。このようなばらつきが生じる理由は競技の違い、被験者の身体能力や鍛錬度の違い、摂取量やタイミング、食事の設定など試験デザインの差異によるところが大きいと思われる。このようにスポーツ栄養素としてのL-カルニチンの効果検証は一般性の点で限界が認められた。

その後、運動関係の研究分野ではL-カルニチンを筋肉にいかに効率よく送り込むかといった観点や次項に述べるトレーニング後の筋肉痛の緩和などがより重要視されるようになっていく。摂取したL-カルニチンの筋肉への蓄積については30年以上もの間様々な研究者によって試行錯誤が続いていたがWallらによって初めて明解な手法として示された²⁶⁾。1.36 g/日相当のL-カルニチンを酒石酸塩の形で一日2回摂取し、同時に血中インスリンを上昇させるべく80 gの糖質を摂取させるというものである。運動を伴いながら24週間摂取を続けたところ、コントロール群ではL-カルニチンの筋中濃度は初期値から変化しなかったのに対し、摂取群では21%上昇した。また摂取群のグルコースの利用率はコントロール群に比べて

55%低減していることなどが確認された（グリコーゲン節約作用）。

11. 「アスリートの安全」の観点から

図3に示したように、筋や肝でのグリコーゲンが枯渇するような条件下であまりに激しい運動を行うと遊離脂肪酸が過度に動員され筋肉細胞のミトコンドリア膜を破たんさせてしまう可能性がある。これは脂肪へのエネルギー依存度の高い心筋においてはとくに留意が必要となる。Lemaitreらの横断的疫学研究によれば、急性心停止のリスクファクター分子としてパルミチン酸、オレイン酸、パルミトオレイン酸の3種脂肪酸が提示されている。これはトップアスリートにもしばしばみられる急性心不全との関連を想起させるものであり突然死など健康安全面の側面から「脂肪毒軽減へのL-カルニチンの利用」を考えることは重要と思われる²⁷⁾。

12. 筋肉痛の低減

運動後の筋肉痛はトレーニング負荷による筋肉細胞膜の損傷に起因する。このような損傷が引き金となって新たなタンパク質の合成が開始されいわゆる超回復が促される。この応答はむしろ理にかなったものであるが、あまりに過度で高頻度な筋損傷は疲労感の蓄積にもつながりシーズン全体を通じたトレーニング効率を考えれば好ましいものとはいえない。

L-カルニチンの継続的な摂取によって運動後の筋肉痛が緩和されることについてはすでに1996年イタリアのGiromberardinoらの報告がある。その後2002年から2010年にかけて米国コネチカット大学のVolekらによって作用機序の解明を含め、系統的な研究が行われた²⁸⁾。L-カルニチンの摂取によってスクワット運動を行った後の筋肉痛の知覚ならびに筋損傷マーカー、活性酸素パラメータの変化などは運動経験の有無、性別、年齢を問わず同じパターンで緩和されることが示された（図10, 11）。また効果を得るための最少有効量としてはL-カルニチン酒石酸塩1,000 mg/日（L-カルニチンとして約

680mg 相当) が得られており日本の摂取上限目安でも適用可能な条件となっている。

スクワットのような運動負荷を加えた場合、筋組織では局所的な酸素欠乏状態が発生する。そのとき筋細胞内へのカルシウムイオンの流入が起こってカルシウム依存性プロテアーゼが活性化され、それをトリガーとしたキサンチンオキシダーゼ系が作動する。また運動負荷によってATPが枯渇するとAMP濃度が高まり、これがやはりキサンチンオキシダーゼ系を活性化する。このオキシダーゼ反応の最終産物は尿酸であり、これは抗酸化能を有する。しかしながらその抗酸化能を上回る大量の活性酸素種(ROS)が発生する場合、これが筋肉細胞膜の損傷の一因となるものと考えられる。L-カルニチンの摂取は負荷を受ける筋肉の毛細血管での血流ひいては酸素供給を維持する。またアセチルコリン作用を伴うL-カルニチンシャトルは代謝の渋滞の少ないスムーズなエネルギー(ATP)供給を促しAMPの過剰な生成を抑制する。その結果としてL-カルニチン摂取群ではROSマーカー、筋損傷マーカーがともにプラセボ摂取群に比べて有意に低減した。前述のようにこの現象は被験者の属性によらず普遍的であることから、アスリートや運動愛好家のみならず高齢者のリハビリ運動の継続などにも活用可能と考えられる。

13. L-カルニチンと抗酸化機能

筋肉痛の緩和効果で示されたL-カルニチン摂取による活性酸素ストレスの低減は毛細血管

(尺度評価)

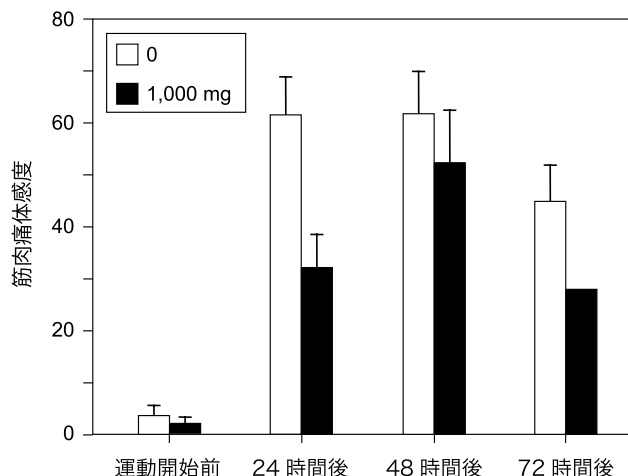


図10 L-カルニチン酒石酸塩による遅発性筋肉痛の抑制(ヒト試験)

Spiering BA. et al. *J Strength Cond Res* 21 (1): 259-264. 2007. より改編して引用

(mU/mL)

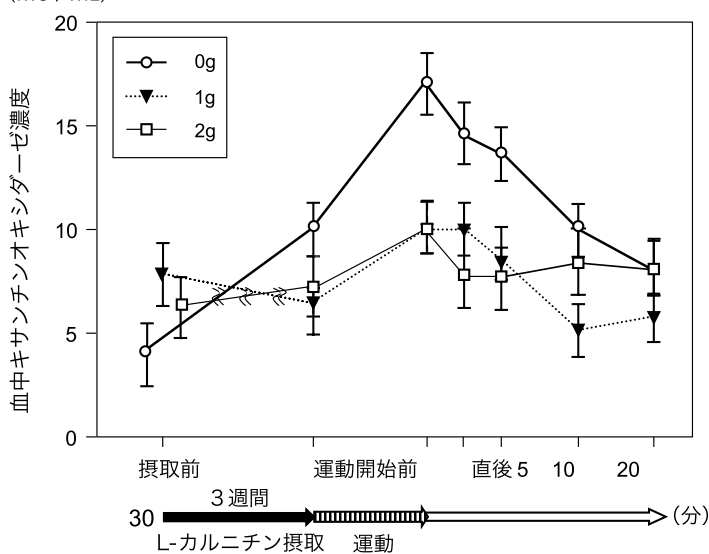


図11 活性酸素産生に関連するパラメータの変化

Spiering BA. et al. *J Strength Cond Res* 21 (1): 259-264. 2007. より改編して引用

における血流の確保(虚血状態の防止)あるいはエネルギー代謝の円滑な進行によるものであり、ROSのクエンチというよりもその発生を未然に抑えることが主な機序であるといえる。一方L-カルニチンの関与している代謝箇所は必ずしも明らかではないが現象として酸化スト

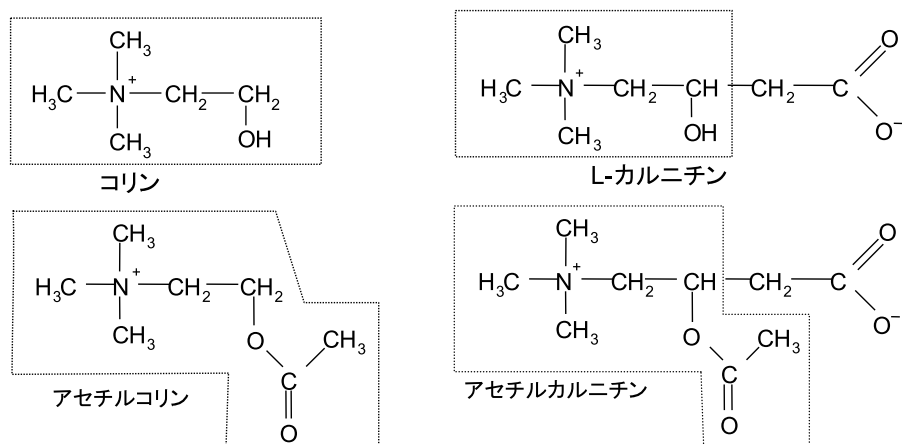


図 12 L-カルニチンとコリン誘導体の構造

レスが低減されたとする報告も多岐に及んでおり、ごく最近のものも含め例えば以下のようなケースで状況改善が示されている。

- 人工甘味料が肝細胞に及ぼす影響²⁹⁾
- 先天性神経細胞代謝疾患³⁰⁾
- 単回摂取した場合の血中のバイオマーカー³¹⁾
- 抗悪性腫瘍薬 Doxorubin の毒性に起因する肝障害³²⁾
- 人工的な低酸素分圧性酸素欠乏時の酸化ストレス³³⁾

L-カルニチンは分子内に ROS を消去するような化学構造を持っていないためそれ自身による直接的な抗酸化作用が現れているものとは考え難い。これらの事例で共通に認められている現象は L-カルニチンの投与によって MDA (マロンジアルデヒド) など活性酸素マーカーの低減とともにグルタチオンペルオキシダーゼ、SOD、カタラーゼなど内因性の抗酸化系酵素の活性が亢進することである。今後この部分の因果関係を説明できる作用機序が明らかになれば他の抗酸化成分との効果的な組み合わせなどに応用の広がりが見込まれるところである。

13. 中枢作用

L-カルニチンが脂質の β -酸化や解糖系から生じるアセチル CoA とのアセチル転移反応に

よってその一部がアセチルカルニチンに変化することについて先に述べた (図 8)。このようにして生じたアセチルカルニチンの多くは尿中に排泄される。これは余剰のエネルギーの処理とも考えられる。他方、アセチルカルニチンは血液脳関門に存在する OCTN レセプターを介して脳に至る³⁴⁾。Ando らはアセチルコリン代謝に注目したアセチルカルニチンの動物実験例を報告している³⁵⁾。ここでは脳シナプスにおけるコリンの取り込み→アセチルコリンの合成→アセチルコリンのシナプスからの放出という一連のプロセス (代謝回転) がアセチルカルニチンの投与により促進されることが認知症モデルラットで示され、Hebb-Williams 課題迷路を用いた学習能力の向上が 19 月齢のラットで確認されている。図 12 に示す通り、もともとアセチルカルニチンとアセチルコリンは非常に近い化学構造をもっており、分子進化的には同根の化学種である可能性もあり、この点大いに想像をかきたてられるところである。

中枢作用についてはその他、睡眠障害の一種であるナルコレプシーに対する L-カルニチン摂取試験が日本で実施されている (L-カルニチン 510 mg/日を 8 週間摂取: 男性 15 名女性 13 名を被験者とした交叉二重盲検試験)³⁶⁾。その結果 L-カルニチンを摂取した場合にまどろみの回数が有意に低下することが示された。

作用機序は明らかではないが、当該研究では被験者の約半数が肥満であったことから脂質代謝と睡眠の関係が考察されている。また、慢性疲労症候群では血中アセチルカルニチン濃度が健常者に比べて有意に低くなること⁷⁾、ナルコレプシーにおいても疲労症状がしばしば見られることから両疾病の関連についても興味をもたれる。

14. 高齢者と L- カルニチン

先に L- カルニチンの筋肉中濃度は加齢とともに減少することについて触れた⁸⁾。しかしこの事実のみから直ちに、高齢であることと L- カルニチンの血中濃度が低いことの間の関係（すなわち高齢域者にとって L- カルニチンをより多く保有していることが有利であるか否か）について結論付けることはできない。高橋らは活動度の違いから 3 通りの属性（①経口栄養入院群 5 名 ②経腸栄養入院群 10 名 ③自立群 30 名）に分類した日本人高齢者（70～84 歳）について血中の L- カルニチン、アセチルカルニチン濃度を分析した³⁷⁾。その結果、遊離カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチンのすべてにおいて「自立高齢者群＞経口栄養入院群＞経腸栄養入院群」という有意な序列が見られることがわかった。このことから、活動度と体内 L- カルニチン量の間には正の相

関があることが推定される。加齢と生合成の関係についての情報は乏しいが、L- カルニチンを豊富に含む肉類の摂取量は日本人では加齢とともに低減することから³⁸⁾ 少なくとも日常食品から L- カルニチンを摂取する機会が減少していることが指摘される。L- カルニチンの摂取によって高齢者の健康状態、活動度、メンタル面での QOL が向上することが報告されている^{39, 40, 41)}。

おわりに

— 補完代替医療の中の L- カルニチン —

L- カルニチンが発見されてから 110 余年になる。この間、日本で最も著しい変化を来しているもののひとつが超高齢化である。加齢に伴う肉体的精神的な QOL の低下を少しでも軽減することはすでに今日喫緊の課題である。L- カルニチンの脂肪燃焼に関する作用機序については相当解明されてきているが、その他の部分、例えば抗酸化作用の機序、中枢作用、日本人高齢者を対象とした摂取効果の実際などについては未だ状況証拠からの推定に留まっている部分が少なくない。日本での L- カルニチン研究が世界を先導している領域も多いことから、本格的な超高齢化時代を目前に控え今後さらにセルフメディケーションの観点から知見が深められることが期待される。

引用文献

1. Gulewitsch W., *et al.*: Zur kenntnis der extractivstoffe der muskeln. *Z Physiol Chem*. **45**: 326-330. 1905.
2. Tomita M., *et al.*: Über die aminoverbindungen, welche die biuretreaktion zeigen. III. Spaltungen der γ -Amino- β -oxybuttersäure in die optisch aktiven kouponenten. *Z Physiol Chem*. **169**: 263-277. 1927.
3. Fraenkel G., *et al.*: The basic food requirements of several insects. *J Exp Biol*. **20**: 28-34. 1943.
4. Carter HE., *et al.*: Chemical studies on vitamin B_T. Isolation and characterization as carnitine. *Arch Biochem Biophys*. **38**: 405-16. 1952.
5. Carter HE., *et al.*: Improvements in the synthesis of DL-carnitine. *J Am Chem Soc*. **75**: 2503-2504. 1953.
6. Takiyama N., *et al.*: Age- and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population. *J Am Col Nutr*. **17** (1): 71-74. 1998.
7. Kuratsune H., *et al.*: Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases. *Int J Mol Med*. **2**: 51-56. 1998.
8. Costell M., *et al.*: Age dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and human. *Biochem Biophys Res Commun*. **161**: 1135-1143. 1989.
9. 小長谷有紀『モンゴル』世界の食文化 3, 農文協刊 2005.
10. Sachan DS., *et al.*: Vegetarian elderly women may risk compromised carnitine status. *Veg Nutr*. **1**: 64-69. 1997.
11. 王堂 哲 広がりつつあるサプリメントを理解する—腎不全患者に活用するために 『臨床透析』 **24** (13): 1758 - 1760. 2008.
12. Vaz M., *et al.*: Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J*. **361**: 417-429. 2002.
13. Rebouche CJ.: Effect of dietary carnitine isomers and gamma-butyrobetaine on L-carnitine biosynthesis and metabolism in the rat. *J Nutr*. **113** (10): 1906-1913. 1983.
14. Tamai I., *et al.*: A molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J Biol Chem*. **273** (32): 20378-20382. 1998.
15. Stadler DD., *et al.*: Effect of dietary macronutrient content on carnitine excretion and efficiency of carnitine reabsorption. *Am J Clin Nutr*. **58** (6): 868-872. 1993.
16. Rebouche CJ.: Quantitative estimation of absorption and degradation of a carnitine supplement by human adults. *Metabol*. **40** (12): 1305-1310. 1991.
17. Reuter SE., *et al.*: Carnitine and acylcarnitines, phamacokinetic, pharmacological and clinical aspects. *Clin Pharmacokinet*. **51** (9): 553-572. 2012.
18. Furuichi Y., *et al.*: Muscle contraction increases carnitine uptake via translocation of OCTN2 *Biochem Biophys Res Commun*. **418**: 774-779. 2012.
19. 日本小児科学会ほか編『カルニチン欠乏症の診断・治療指針 2016』
20. Oyanagi E., *et al.*: Protective action of L-carnitine on cardiac mitochondrial function and structure against fatty acid stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 41261-41267. 2011.
21. Wutzke KD., *et al.*: The effect of L-carnitine on fat oxidation, protein turnover and body composition in slightly overweight subjects. *Metabol*. **53**: 1002-1006. 2004.
22. Seiler ES., *et al.*: Carnitine acetyltransferase mitigates metabolic inertia and muscle fatigue during exercise. *Cell Metabolism*. **22**: 65-76. 2015.
23. Muoio DM., *et al.*: Muscle-specific deletion of carnitine acetyltransferase compromises glucose tolerance and metabolic flexibility. *Cell Metab*. **15**: 764-777. 2012.
24. Pooyandjoo M., *et al.*: The effect of (L-) carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials obesity reviews. *Obes Rev*. **17** (10): 970-976. 2016.
25. Odo S., *et al.*: A pilot clinical trial on L-carnitine supplementation in combination with motivation training: Effects on weight management in healthy volunteers, *Food Nutr Sci*. **4**: 222-231. 2013.
26. Wall BT., *et al.*: Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increase muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans *J Physiol*. **589** (4): 963-973. 2011.
27. 矢野ら：L- カルニチンの脂肪酸に対する心筋ミトコンドリア保護作用, 川崎医療福祉学会誌, **23** (1):

- 27-36. 2013.
28. Fielding R., *et al.*: L-carnitine supplementation in recovery after exercise. *Nutrients*. **10** (3): E349. 2018.
 29. Hamza RZ., *et al.*: Effect of L-carnitine on aspartame-induced oxidative stress, histopathological changes, and genotoxicity in liver of male rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. doi: 10.1515/jbcp-2018-0064. 2019.
 30. Ribas GS., *et al.*: L-carnitine supplementation as a potential antioxidant therapy for inherited neurometabolic disorders. *Gene*. **533** (2): 469-476. 2014.
 31. Cao Y., *et al.*: Single dose administration of L-carnitine improves antioxidant activities in healthy subjects. *Tohoku J Exp Med*. **224** (3): 209-213. 2011.
 32. Alshabanah OA., *et al.*: Doxorubicin toxicity can be ameliorated during antioxidant L-carnitine supplementation. *Oxid Med Cell Longev*. **3** (6): 428-433. 2010.
 33. Bodea F., *et al.*: L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. **16** (2): 78-81. 2010.
 34. Kuratsune H., *et al.*: High uptake of [2-11C] acetyl-L-carnitine into the brain: A pet study. *Biochem Biophys Res Commun*. **231**: 488-493. 1997.
 35. Ando S., *et al.*: Enhancement of learning capacity and cholinergic synaptic function by carnitine in aging rats. *J Neurosci Res*. **66**: 266-271. 2001.
 36. Miyagawa T., *et al.*: Effects of oral L-carnitine administration in narcolepsy patients: A randomized, double-blind, cross-over and placebo-controlled trial. *PLOS ONE* **8** (1): e53707. 2013.
 37. 高橋美知代ら：長期入院高齢者における L- カルニチンおよび CoQ10 血中レベルは自立高齢者よりも低値を示す *New Diet Therapy* **30**: 23-33. 2014.
 38. Ishikawa-Takata K., *et al.*: Current protein and amino acid intakes among Japanese people: Analysis of the 2012 National Health and Nutrition Survey. *Geriatr Gerontol Int*. **18** (5): 723-731. 2018.
 39. Malaguarnera M., *et al.*: L-carnitine treatment reduces severity of physical and mental fatigue and increases cognitive functions in centenarians: a randomized and controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr*. **86**: 1738-44. 2007.
 40. Badrasawi M., *et al.*: Efficacy of L-carnitine supplementation on frailty status and its biomarkers, nutritional status, and physical and cognitive function among prefrail older adults: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Clin Interv Aging*. **11**: 1675-1686. 2016.
 41. Evans M., *et al.*: Efficacy of a novel formulation of L-carnitine, creatine, and leucine on lean body mass and functional muscle strength in healthy older adults: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutr Metabol*. **14**: 7. 2017.

要約

L-カルニチンは主に筋肉に含有されている水溶性のアミノ酸誘導体であり、カルニチンシャトル機構によりエネルギー源としての長鎖脂肪酸をミトコンドリア内に運搬するために必須の成分である。肝臓や腎臓でタンパク質中のリジンから生合成されるが必要量の50～75%程度は赤身肉を中心とした一般食品から摂取されるほか、医薬やサプリメントとしても補給される。L-カルニチンの摂取にはミトコンドリアにおける β -酸化を活性化することのみならずアセチルバッファー作用によって遊離CoA量を確保することを通じてエネルギー代謝の渋滞を緩和する作用がある。健康人ではメタボリックシンドローム、アスリート、高齢者、ウエイトマネジメントなどにメリットをもたらすことが期待される。健康上好ましい方向にモチベーションを伴いながら摂取を行った場合には低用量（500mg/日）でも体重減少の効果が現れることが日本人被験者で示されている。運動においては活性酸素の低減を通じた筋肉痛の緩和などの効能が見いだされている。L-カルニチンによる活性酸素種の低減はグルタチオンペルオキシダーゼやSODなど内因性の抗酸化システムを亢進させることによると考えられている。L-カルニチンの一部はアセチルカルニチンとなってアセチルコリンの代謝回転に寄与し、認知力の向上や脳神経細胞の保護作用を表す。加齢に伴って体内のL-カルニチンが減少する高齢者にとってはL-カルニチンの補給を行うことによって身体的、精神的双方のメリットが見込まれるため、今後の高齢化社会におけるセルフメディケーションツールの一つとしての普及が期待される。

連絡先：王堂 哲 (Satoshi Odo)

ロンザジャパン株式会社

〒104-6591 東京都中央区明石町 8-1 聖路加タワー 39 階

e-mail: satoshi.odo@lonza.com



Lonza

効率的なダイエットに L-カルニチン Carnipure®

Carnipure®カルニピュアはアミノ酸誘導体で
他の素材では代替できない脂肪燃焼に必須の栄養素です。
L-カルニチンの働きにより脂肪が筋肉の中で燃焼し
エネルギーに変わるので、効率的なダイエットにつながります。

【種類】 ◆液状製品向けに L-カルニチン結晶性粉末・L-カルニチン 100%
◆固形・液状製品向けに L-カルニチン酒石酸塩・L-カルニチン 68%

【一日摂取目安量】 500～1,000mg

【応用実績例】 固形粉末、液状、ゲル状・ゼリー状、練り物、焼き菓子など

【剤形】 ハードカプセル、液体充填カプセルリキャップス、飲料など



【機能素材に関する問い合わせ】

ロンザジャパン株式会社
コンシューマーヘルス・ニュートリション事業部
東京都中央区明石町 8-1 聖路加タワー39階
TEL : 03-6264-0600 (代) Email : contact.jp@lonza.com
URL : www.carnipure.com

【ハードカプセル/カプセル充填機に関する問い合わせ】

カプスゲル・ジャパン株式会社
神奈川県相模原市中央区南橋本 4-3-36
TEL : 042-700-6700 Email : marketing.cj@lonza.com
URL : www.capsugel-jp.com

海藻カロテノイド 「フコキサンチン」による抗肥満作用

前多 隼人 (MAEDA Hayato)*

* 弘前大学農学生命科学部 食料資源学科

Key Words：フコキサンチン UCP1(uncoupling protein 1) アディポサイトカイン

はじめに

カロテノイドは野菜や果実の他、海産物にも含まれる黄色から赤色を呈した色素成分であり、光合成の補助色素として植物体内で合成される。動物は摂取した植物体に含まれるカロテノイドを体内に取り入れ、そのものおよびその代謝物を体内に蓄積している。これまでに自然

界には 750 種類のカロテノイドが存在することが確認されており¹⁾、その内食品中には 100 種類ほど見出されている。 β -カロテン、 α -カロテン、リコペンはカロテン類に分類され、プロビタミン A 活性を有しヒトにとっては欠くことのできない栄養素である。ルテイン、ネオキサンチン、ピオラキサンチン、 β -クリプトキ

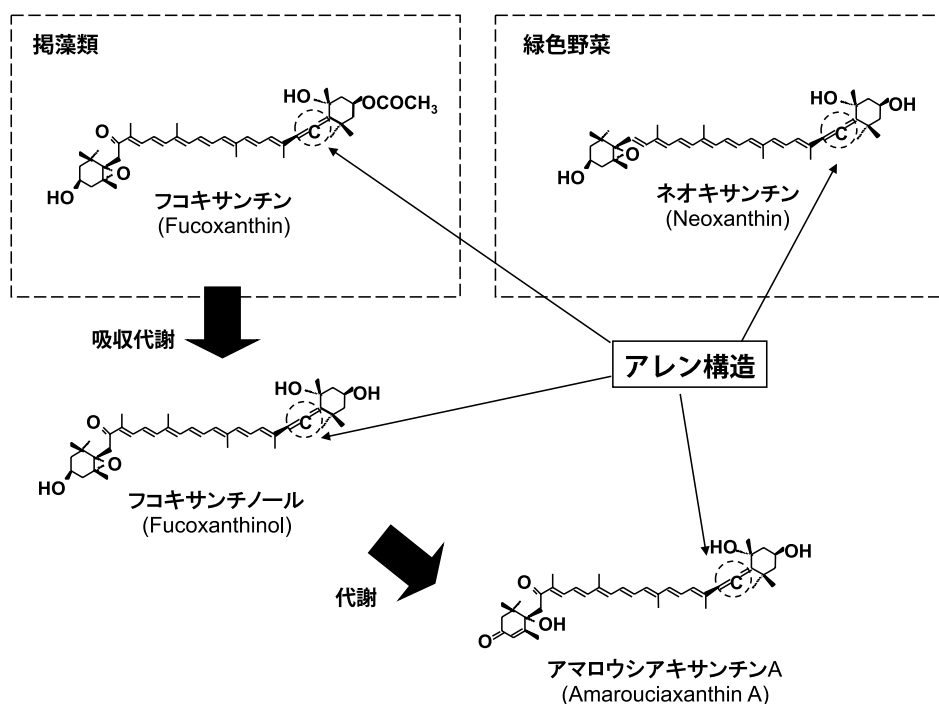


図1 アレン構造を有するカロテノイドとその代謝物

サンチン、アスタキサンチン、フコキサンチンは分子内に酸素分子を有するキサントフィル類に分類される。

フコキサンチンはワカメ、コンブ、モズクなどの褐藻類に特徴的に含まれており、光合成において青緑色域（480～540 nm）の光を吸収する補助色素として働いている。フコキサンチンの分子構造中には、3つの炭素原子の間に2重結合が連続した構造を含む（図1）。このアレン構造を有するカロテノイドはフコキサンチンの代謝物やネオキサンチンなどごくわずかな種類しかない。フコキサンチンの生理機能としては、抗酸化作用²⁾や、白血病³⁾、前立腺癌⁴⁾、結腸がん細胞増殖抑制作用⁵⁾、血管新生抑制作用⁶⁾、抗炎症作用⁷⁾、肝臓でのDHA合成促進作用⁸⁾などが報告されている。本稿ではこれらのフコキサンチンの機能のうち、肥満に関係する疾患の予防改善作用について解説する。

1. フコキサンチンによる内臓脂肪蓄積抑制作用

フコキサンチンは脂肪組織への余分な脂質の蓄積を抑え、内臓脂肪の蓄積抑制による肥満予防作用を示すことが示唆されている。その作用メカニズムとして白色脂肪細胞での uncoupling protein 1 (UCP1) の発現亢進であることが報告されている⁹⁾。

脂肪組織には WAT (white adipose tissue) と BAT (brown adipose tissue) が存在し、互いに異なった機能を示す。WAT は内臓脂肪を含む身体全体に存在する脂肪組織であり、過剰なエネルギーを脂肪として蓄積する役割がある。一方、BAT は肩部にごく少量あり、UCP1 を介して脂肪を分解し熱を産出することで体温を保持する機能を示す。交感神経からの刺激により UCP1 が活性化されると UCP1 を有するミトコンドリアでは、ATP 合成を伴わないプロトンの濃度勾配の解消が起こり、エネルギーが熱に変換され散逸する。この UCP1 による熱産生は寒冷状態での体温調整の役割を持つ。また過

剰摂取したカロリーを代謝し適正体重の維持する働きも有することが提唱されている¹⁰⁾。ヒトでは UCP1 を含む BAT は若年期には存在するが、成人になるに従い消失すると考えられてきた。しかし成人でもごくわずかな UCP1 を局所的に含む脂肪細胞が存在し、エネルギー消費に関わっていることが明らかになってきている¹¹⁾。このような脂肪細胞は Beige (ベージュ) 細胞と呼ばれており、エネルギー消費亢進に役立つ脂肪組織と考えられている。食品成分により UCP1 を含む Beige 細胞を誘導することができれば、エネルギー消費を高め効果的に肥満予防することが期待できる。

フコキサンチンを糖尿病肥満モデルマウス (KK-*A^y* マウス) に投与すると、WAT 重量の増加が顕著に抑制され、さらに WAT での UCP1 タンパク質発現が確認された (図2)¹²⁾。食事性肥満を誘導した C57/BL6J マウスによる実験でも WAT 重量の低下が確認されている。これらの試験では WAT での $\beta 3$ アドレナリン受容体 (Adrb3) の mRNA の発現上昇が確認された¹³⁾。Adrb3 は交感神経からの刺激により脂肪細胞での脂肪分解を促す働きをする受容体である。Adrb3 アゴニスト刺激により脂質分解と BAT での UCP1 の発現上昇が誘導されることから、フコキサンチンによる UCP1 発現調節には Adrb3 の関与が考えられる。

フコキサンチンは摂取後、アセチル基が脱離したフコキサンチノールに変換される (図1)。ヒトにおいてもフコキサンチン摂取後に血漿中にフコキサンチノールの存在が確認されている。海藻脂質を投与したマウスの WAT 中にはフコキサンチノールが検出される。従ってフコキサンチノールが UCP1 の発現亢進に関与することが考えられた。そこでマウスの初代培養白色脂肪細胞に対して、フコキサンチノールを添加し UCP1 mRNA 発現量の変化を測定した (図3 (A))。その結果、フコキサンチノール 10 μ M 添加細胞において UCP1 mRNA の発現量の上昇が認められた。また Western blot 法にてタンパク質の発現を測定し

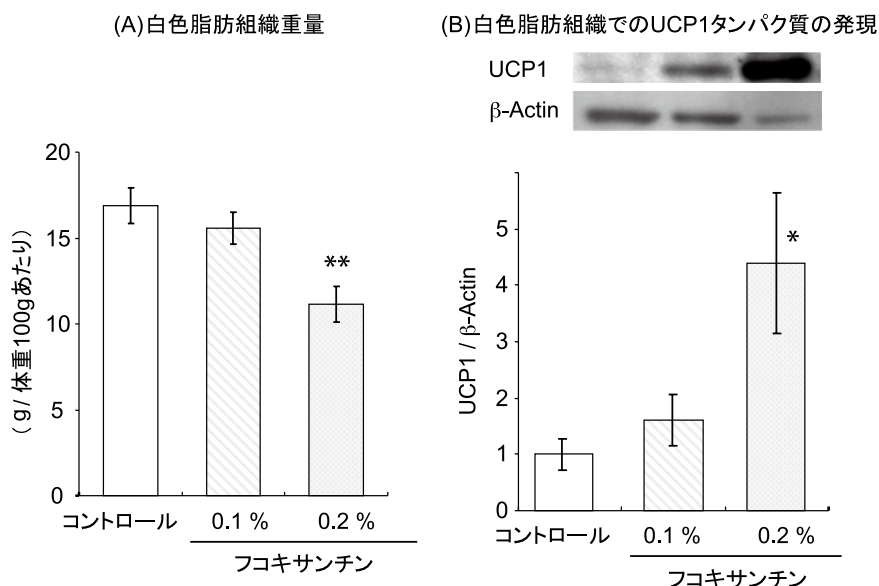


図2 フコキサンチンを0.1, 0.2%含む飼料と投与したKK-*A^y*マウスの(A)白色脂肪組織重量と(B)白色脂肪組織でのUCP1タンパク質の発現量 (* $p<0.05$ vs コントロール, ** $p<0.01$ vs コントロール)

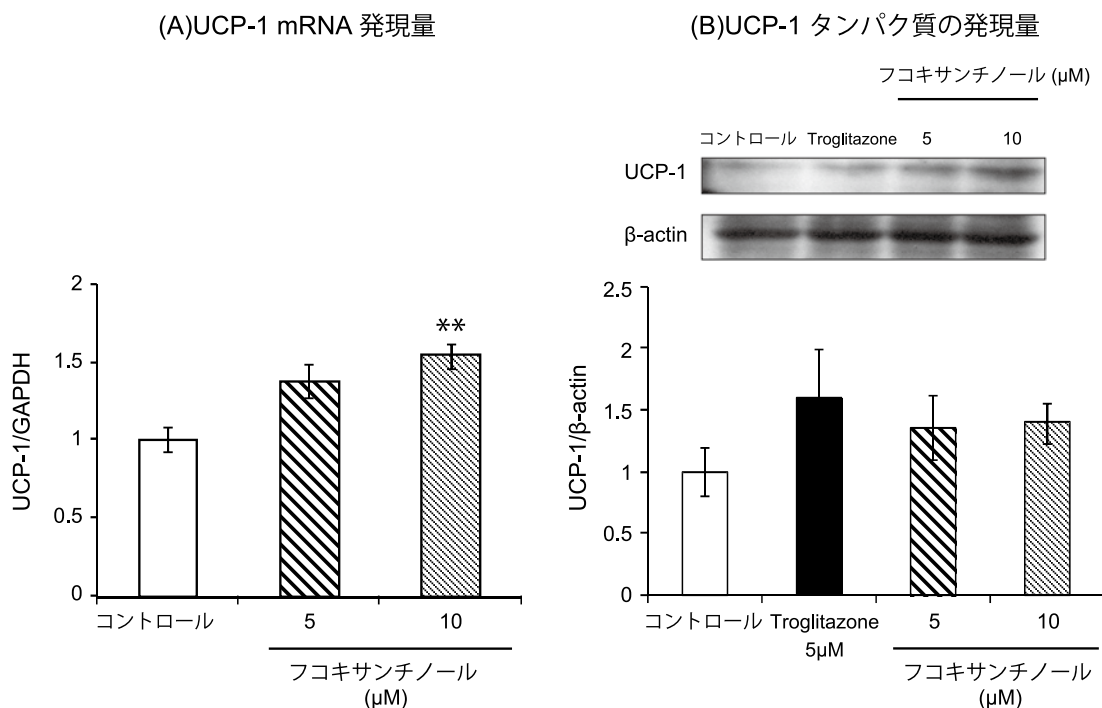


図3 フコキサンチノールによるマウス初代培養脂肪細胞でのUCP1の発現亢進作用 (A)UCP-1 mRNA 発現量の変化 (B)UCP1 タンパク質の発現量 Troglitazone は脂肪細胞内の核内転写因子 (PPAR γ) のリガンドである薬剤でありポジティブコントロールとして使用した (** $p<0.01$ vs コントロール)

た結果、フコキサンチノール添加細胞で上昇傾向を示した(図3(B))。以上の結果から代謝物のフコキサンチノールが脂肪細胞内での活性成分であると考えられる。

2. アディポサイトカイン分泌調節と筋肉組織への作用

肥満が進行すると、肝臓や筋肉などの体内の組織でのインスリン抵抗性が高まり糖尿病を発症する。インスリン抵抗性の惹起には肥大化した脂肪細胞から分泌されるTNF- α (tumor necrosis factor- α) や MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) などのアディポサイトカインが関与している。これらのアディポサイトカインは、マクロファージなどの単球細胞の浸潤を誘導し、様々な組織での慢性炎症状態を招く。糖尿病の予防には肥満の解消と共に、

アディポサイトカインの分泌調節が有効であると考えられる。

フコキサンチンを投与したKK- A^y マウスでは、血糖値と血中インスリン濃度の顕著な改善効果が示された^{12, 14)}。また耐糖能の改善効果が示された¹⁵⁾。さらにWATでのTNF- α や MCP-1, IL-6 (interleukin-6) の mRNA 発現低下と、血漿中の濃度も低下が確認された^{12, 14)}。これらアディポサイトカインの発現調整にもフコキサンチノールが関わっていることが報告されている。マウス由来3T3-L1 脂肪細胞とマウス由来マクロファージ様細胞(RAW264.7細胞)を共培養し、脂肪細胞での慢性炎症状態を再現した細胞にフコキサンチノールを添加し、その抗炎症作用を評価した¹⁵⁾。その結果、共培養によって上昇したMCP-1, IL-6の発現が低下し(図4)、プロスタグランジンの産生の律速

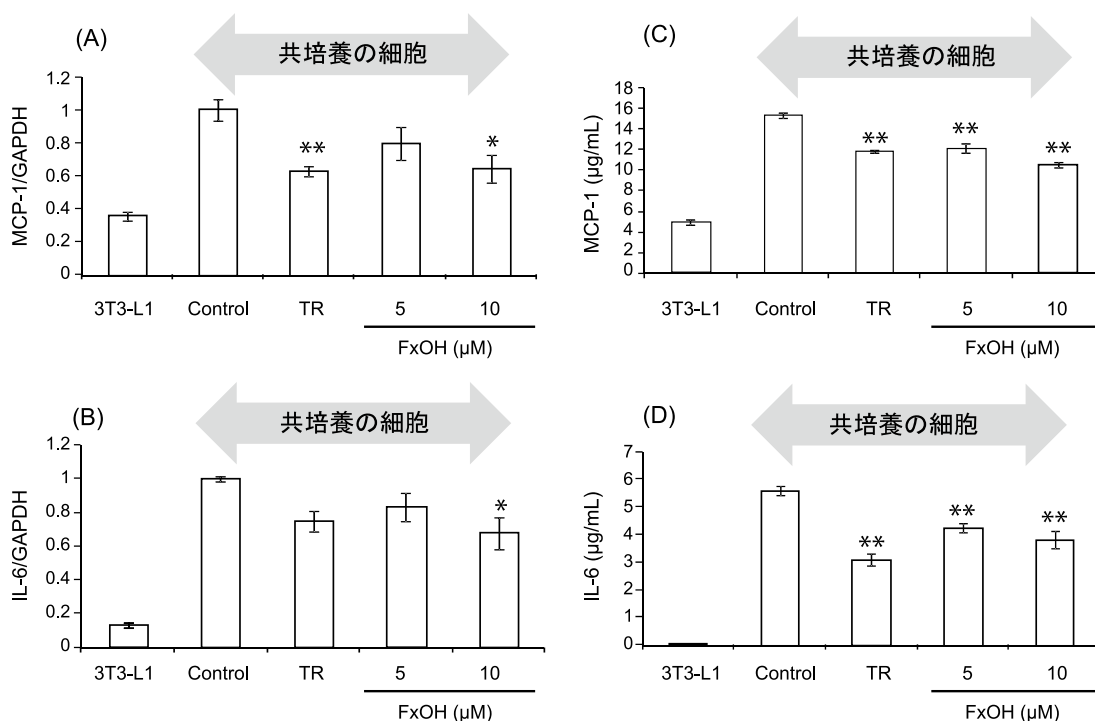


図4 フコキサンチノールによる脂肪細胞での慢性炎症抑制作用

3T3-L1: 脂肪細胞単独培養, Control: 共培養細胞, TR: Troglitazone 10 μ M 添加細胞, FxoH: フコキサンチノール添加細胞 (5 μ M, 10 μ M)

(A) MCP-1 mRNA 発現量, (B) IL-6 mRNA 発現量, (C) 培地中の MCP-1 の濃度, (D) 培地中の IL-6 の濃度 (* p < 0.05 vs Control, ** p < 0.01 vs Control)

となる COX2 の抑制も確認されている。

マウスの肝臓や WAT ではフコキサンチノールがさらに代謝されたアマローシアキサンチン A が蓄積している。3T3-L1 細胞による試験ではアマローシアキサンチン A の方がフコキサンチノールよりも脂肪蓄積抑制効果が強いことが報告されている¹⁶⁾。さらに脂肪細胞に特徴的に発現上昇が認められる核内転写因子である PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), および転写調節に関わる C/EBP α (CCAAT enhancer binding protein α) の mRNA とタンパク質発現量を調べた結果、アマローシアキサンチン A を添加した細胞で強い発現抑制効果が示されている。

また、フコキサンチンは筋肉組織での GLUT4 (glucose transporter 4) の機能調節にも関与する¹⁷⁾。血中のグルコース濃度が高まるとインスリンが分泌され、筋肉細胞膜上のインスリンレセプターに作用する。次いで、細胞質中に存在する GLUT4 が細胞膜へトランスロケーションし、血中のグルコースが速やかに筋肉細胞へと取り込まれる。肥満状態では GLUT4 のトランスロケーションが抑制される。フコキサンチンを投与した KK-*A*^y マウスでは、GLUT4 のトランスロケーションが改善された。また、インスリンシグナルの伝達に関する AKT タンパク質のリン酸化と、インスリン受容体の mRNA の発現量の増加が誘導された。これらのことからフコキサンチンはアディポサイトカインの分泌調節と、筋肉組織での糖取り込みの改善の両面から、糖尿病を予防、改善する働きを示すと考えられる。

3. フコキサンチンの臨床試験研究

フコキサンチンを含む成分による抗肥満作用の臨床試験結果が報告されている¹⁸⁾。肥満女性に対してフコキサンチンを 16 週間、1 日あたり 2.4 mg 投与したところ、有意な体重の減少と、胴回りのサイズの低下、体脂肪、肝臓脂肪、および血漿トリアシルグリセロール濃度の低下が認められた。さらに安静時のエネルギー

消費量の上昇が確認されている。日本人を対象とした試験では、1 日あたりフコキサンチンを 2 mg、および 4 mg 含むカプセルを 3 カ月間投与した結果、フコキサンチン投与群ではプラセボ群と比較し体重、皮下脂肪、内臓脂肪の低下が報告されている¹⁹⁾。また糖尿病の予防効果に関係する報告では、1 日当たりフコキサンチンを 1 mg、および 2 mg を 8 週間投与した結果、糖尿病の指標となるヘモグロビン A1c の低下が確認された²⁰⁾。また UCP1 の遺伝子型との関係についても調べられており、UCP1 の働きの弱い遺伝子型を持つ被験者の方がヘモグロビン A1c の低下しやすいことが示唆されている。遺伝子型の違いにより食品機能性成分の効果に差があることを報告した、興味深い知見である。

4. フコキサンチンを含む海藻

フコキサンチンは他の食品機能性成分に見られない特徴的な作用メカニズムにより、肥満に関係した疾患を予防する成分として注目を集めてきている。フコキサンチンを含む褐藻はワカメやコンブが代表であるが、日本ではその地方独特の食用海藻が市場に出回っている。例えばアカモク (*Sargassum horneri*) は岩手県で以前から食されていた海藻である。季節や採取場所によっては乾燥重量 1 g 当たりフコキサンチンが 4 mg 前後含まれることから注目が集まり、流通量が近年増加している。アカモクは秋田県ではギバサと呼ばれ、古くから地元の食卓で消費されている。また筆者らは最近、青森県日本海側で採取されるイシモズク (*Sphaerotrichia divaricata*) のフコキサンチン含有量について、季節や採取場所による含有量の違いを報告した²¹⁾。イシモズクは沖縄で収穫されるオキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus*) とは学名が異なり、形態は似ているが異なる種である。オキナワモズクよりもシャキシャキとした程よい食感があることが特徴で、東北地域で食されている。フコキサンチンが乾燥重量 1 g 当たり 1 ~ 2.5 mg ほど含まれており、フコキサンチンを含む食材として有効であると考えている。

フコキサンチンを含む海藻は日本各地で採取され、だし昆布やみそ汁の具、和え物、酢の物など食卓にアクセントを加える食材として親しまれてきた。フコキサンチンをはじめとしたカロテノイド類は体内で代謝されやすい弱点があることから、継続的に摂取することが望まれる。

海藻類の摂取は体内での抗酸化作用に加え、肥満に関連する疾患の予防も期待できる食材であると考えられる。

引用文献

1. 西川研次郎ほか：食品機能性の科学。(株)産業技術サービスセンター，2008.
2. Sachindra NM, Sato E, *et al.*: *J Agric Food Chem.*, **55**: 8516-8522, 2007.
3. Hosokawa M, Wanezaki, S, *et al.*: *Food Sci. Technol. Res.*, **5**: 243-246, 1999.
4. Kotake-Nara E, Kushihiro M, *et al.*: *J Nutr.*, **131**: 3303-3306, 2001.
5. Das SK, Hashimoto T, *et al.*: *Biochim Biophys Acta.*, **1726**: 328-335, 2005.
6. Sugawara T, Matsubara K, *et al.*: *J Agric Food Chem.*, **54**: 9805-9810, 2006.
7. Kim KN, Heo SJ *et al.*: *Eur J Pharmacol.*, **649**: 369-375, 2010.
8. Tsukui T, Konno K, *et al.*: *J Agric Food Chem.*, **55**: 5025-5029, 2007.
9. Maeda H, *et al.*: *Biochem Biophys Res Commun.* **332**: 392-397, 2005.
10. 岡松優子ほか：メタボリックシンドローム。肥満と脂肪エネルギー代謝 第4章褐色脂肪と肥満。建帛社，2008.
11. Harms M, Seale P.: *Nat. Med.* **19**: 1252-1263, 2013.
12. Maeda H, *et al.*: *J Agric Food Chem.* **55**: 7701-7706, 2007.
13. Maeda H, *et al.*: *Mol Med Report.* **2**: 897-902, 2009.
12. Maeda H, *et al.*: *J Agric Food Chem.* **55**: 7701-7706, 2007.
14. Hosokawa M, *et al.*: *Arch Biochem Biophys.* **504**:17-25,2010.
15. Maeda H, Kanno S, *et al.*: *Marine drugs*, **13**: 4799-4813, 2015.
16. Yim MJ, *et al.*: *J Agric Food Chem.* **59**:1646-1652, 2011.
17. Nishikawa S, *et al.*: *Phytomedicine.* **19**: 389-394, 2012.
18. Abidov M, *et al.*: *Diabetes Obes Metab.* **12**: 72-81, 2010.
19. Li Y, Iwata K.: *Jpn. Pharmacol. Ther.* **9**: 1317-1322, 2015.
20. Mikami N, *et al.*: *J. Nutr. Sci.* **6**: 1-9, 2017.
21. Maeda H, *et al.*: *Marine drugs*, **16**: E255, 2018.

連絡先：前多 隼人

〒036-8561 青森県弘前市文京町3番地
弘前大学 農学生命科学部 227 室
食料資源学科 食品科学コース
TEL/FAX : 0172-39-3790
E-mail : hayatosp@hirosaki-u.ac.jp

養魚飼料原料としての食品廃棄物やバイプロー 3. ウェハース屑, ゴマ油粕, 廃棄マヨネーズ

酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi)

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

Key Words: 食品廃棄物, バイプロ, ウェハース屑, ゴマ油粕, 廃棄マヨネーズ, 養魚飼料原料, 増重量, 飼料効率, タンパク質効率, 魚体蓄積率濁

食品廃棄物やバイプロの中には食品としては提供出来ないが飼料原料として利用出来る物が沢山有る。賞味期限切れや包材の破損などで製品として供せなくなった物, 製造ラインでの壊れや粉化などで製品に出来なかった物, 目的物を抽出した後の残渣などである。

既に菓子粉, 出汁粕, パン屑¹⁾, 再生大豆油, ラーメン屑, ビール粕²⁾などの養魚飼料原料としての可能性を調べたが, 本報告ではウェハース屑, ゴマ油粕, 廃棄マヨネーズの養魚飼料原料としての適性を調べた。

ウェハース屑

ウェハースとは小麦粉, 卵, 砂糖などを混ぜ合わせ, 格子状の入った型ではさみ, 薄く焼いた焼き菓子である。このウェハースの賞味期限切れ製品や, 製造ラインでの割れや粉屑などを集めて粉碎した物がウェハース屑である。既報¹⁾の菓子粉と類似の物であるが, 菓子粉に比べて脂質が少なく炭水化物が多いので, 軽くてサラサラした物性の物である。

1. 材料と方法

表1にウェハース屑の分析値を示す。殆どが炭水化物で, タンパク質を少量含み, 脂質と灰

分は極少量である。この分析結果から, 炭水化物源としての可能性を調べることにした。これまでの試験³⁻⁶⁾で中白糠(酒糠)が養魚飼料の炭水化物源として優れていることが分かっているので, 中白糠とウェハース屑の比較を行うことにした。表から分かるように, 中白糠の方がタンパク質, 脂質, 灰分およびカロリー含量が高く, 炭水化物はウェハース屑の方が多かった。

ニジマス幼魚で両炭水化物源を配合した飼料の消化吸収率を調べ, 両者を比較することによってウェハース屑の炭水化物源としての可能性を判断した。消化吸収率測定用試験飼料の組成は魚粉:66%, 炭水化物源:30%, ビタミン・ミネラル混合:4%の単純な配合とした。この飼料に内部標準物質として酸化クロムを外割で0.1%添加した。飼料はハードペレットクランブルとし, 以下の手順に従って製造した。原料を混合, 粉碎し, 小型のペレットマシン(上田

表1 供試炭水化物源の分析値

炭水化物源	中白糠	ウェハース屑
水分 (%)	13.0	9.87
タンパク質	14.1	4.51
脂質	4.08	0.69
灰分	2.17	0.86
炭水化物	60.9	74.7
Cal/100g	214.9	196.0

鉄工製ペレットミル J2) でハードペレットに成型する。棚式乾燥機 (富士乾燥機製) で送風乾燥した後、クランブラーで破砕する。篩で必要な大きさの飼料のみを集めて試験飼料とした。

60L 容角型透明プラスチック水槽の外側に魚を落ち着かせるために黒色ビニールで覆った水槽に平均体重 8.3g のニジマス幼魚を 30 尾ずつ収容し、水温 15.3 ~ 16.1°C で飼育した。一週間市販のニジマス用飼料で予備飼育して魚を環境に馴致させた。その後 3 日間試験飼料を与え、4 日目から採糞を開始した。排泄された糞を直ちにサイホンで回収した。採糞は 10 日間続けて行い、10 日分の糞を一緒にして分析サンプルとした。なお、給餌後水槽底の残餌や夜間に排泄されていた古い糞をサイホンで除去し、消化吸収率測定用の糞と混じらない様に注意した。

飼料と糞のクロム量は古川らの湿式定量法⁷⁾、水分は 105°C での強熱乾燥法、タンパク質はセミマイクロケルダール法、炭水化物は塩酸分解法⁴⁾で測定した。これらの結果から飼料全体、タンパク質および炭水化物の見かけの消化吸収率⁸⁾を求めた。

2. 結果

消化吸収率の測定結果を表 2 に示す。飼料タンパク質の消化吸収率は両区で殆ど同じ値を示したが、飼料全体と炭水化物の消化吸収率はウェハース屑の方が高い値を示した。特に炭水化物の消化吸収率はウェハース屑の方が著しく高かった。魚による炭水化物の消化吸収量が多い原料 (炭水化物含量が多く、消化吸収率も高い原料) の方が飼育成績も優れているので、養魚飼料の炭水化物源として適していることを既に証明した。ウェハース屑は中白糖よりも炭水化物源として優れている可能性がある。しかしながら、魚の成長、飼料効率、タンパク質効率

などの飼育成績には原料のタンパク質や脂質含量も大きな影響を及ぼすことが分かっている。中白糖とウェハース屑のいずれが養魚飼料の原料としてより適しているかは、両者を配合した飼料で実際に魚を飼育してからでないと判断出来ない。

現在養魚飼料の炭水化物源として一般的に用いられているのは飼料用の小麦粉である。小麦粉の成分、消化吸収率の測定例、小麦粉と菓子粉の比較例などから、小麦粉よりウェハース屑の方がより良い飼育成績が得られるであろうことは容易に推測出来る。また、飼料全体の消化吸収率が高いので、ウェハース屑を用いれば糞の量が減り、飼育環境の改善にも役立つものと思われる。

以上の結果から、炭水化物源としてウェハース屑を用いれば小麦粉を用いた場合より飼育成績と飼育環境が改善出来る可能性が高く、ウェハース屑は養魚飼料の炭水化物源として有望であると判断した。

3. 要約

・ウェハース屑は消化吸収率が高く、飼料用小麦粉を使用した場合より飼育成績が改善出来、糞の量の減少によって水質汚濁も軽減出来る可能性が高い。

・ウェハース屑は養魚飼料の炭水化物源として有望である。

ゴマ油粕

ゴマ油粕はゴマ油を搾油した後に残るバイプロである。今回試験に用いたゴマ油粕の生産工程は以下の通りである。ゴマ→篩別や風力分級によって異物を分離→220°C で 15 分程度ロースト→プレス方式で搾油→残渣→冷却→粉碎→ごま油粕。現在ゴマ油粕は肥料や畜産用飼料に利用されているが、養魚飼料への利用は一般的でない。

表 2 飼料成分の消化吸収率

炭水化物源	中白糖	ウェーハース屑
全体 (%)	78.4	85.5
タンパク質	94.5	94.8
炭水化物	74.6	95.9

1. 材料と方法

1-1. ゴマ油粕の成分

表 3 に用いたゴマ油粕の分析値を示す。タンパク質, 脂質およびカロリー含量が高いことに特徴がある。脂肪酸組成ではオレイン酸(18:1n9)とリノール酸(18:2n6)が多い。この分析値から養魚飼料のタンパク質と脂質の供給源である脱脂大豆粕と魚粉の代替が可能ではないかと考え, ゴマ油粕による脱脂大豆粕と魚粉の代替試験を行った。

1-2. 試験飼料

A から F の 6 試験区を設定した。それぞれの区の試験飼料の組成と分析値を表 4 に示す。A 区は対照区でゴマ油粕無添加, B 区は脱脂大豆粕の全量をゴマ油粕で代替, C 区はさらに魚粉の 10 部を代替え, 以降はさらに 10 部ずつ魚粉の代替量を増やした。分析値を見ると, 脱脂大豆粕の代替区 (B) では飼料の脂質含量とカ

ロリー含量が高くなり, カロリー・タンパク質比 (C/P 比) も大きくなっていったが, タンパク質, 灰分および炭水化物含量は殆ど変化していなかった。魚粉を代替えした区 (C-F) では, 代替量が多くなるに従ってタンパク質と灰分含量が減少し, 脂質と炭水化物含量が増加した。また, カロリー含量は減少し, C/P 比は大きくなっていった。なお, カロリー量はタンパク質: 4, 脂質: 9, 炭水化物: 2Cal/g の数字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。

飼料はハードペレットクランブルで, 製造法は前述の通りである。

1-3. 飼育試験

水容量 38.4L の塩ビ製水路型水槽に平均体重 0.3g のニジマス稚魚を 100 尾ずつ収容し, 水温 14℃で 9 月 7 日から 11 月 7 日まで 2 カ月間飼育した。給餌は日に 3 回 (午前 1 回, 正午 1 回, 午後 1 回), 給餌率は改変ライトリッツ給餌率によった。

1-4. 調査項目

以下の方法に従って生残率, 増重量, 飼料効率, タンパク質効率などを調べ, 全魚体と血漿の成分分析を行なった。さらに飼料成分の魚体蓄積率を求めた。

表 3 ゴマ油粕の分析値

一般成分		脂肪酸組成	
水分 (%)	1.19	16:0 (%)	8.5
タンパク質	48.8	18:0	6.0
脂質	10.6	18:1n9	39.1
灰分	12.8	18:1n7	0.8
炭水化物	12.7	18:2n6	43.5
Cal/100g	316.0	18:3n3	0.3

表 4 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D	E	F
魚粉 (%)	59	59	49	39	29	19
米糠	19	19	19	19	19	19
小麦粉	11	11	11	11	11	11
脱脂大豆粕	7					
ビール酵母	1	1	1	1	1	1
ビタミン・ミネラル混合	3	3	3	3	3	3
ゴマ油粕		7	17	27	37	47
水分 (%)	6.48	6.48	6.14	5.98	5.98	6.75
タンパク質	49.7	50.3	48.1	45.7	43.7	41.3
脂質	6.92	7.58	7.78	7.95	8.22	8.25
灰分	11.7	12.0	11.7	11.3	10.8	10.4
炭水化物	23.4	22.9	24.3	26.0	27.0	26.0
Cal/100g	307.9	315.2	311.0	306.4	302.8	291.5
C/P 比	6.20	6.27	6.47	6.70	6.93	7.06

表 5 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D	E	F
生残率 (%)	96	97	97	97	97	97
増重量 (g)	141.2	137.8	128.5	113.1	102.5	82.3
給餌量 (g)	120.9	120.9	120.9	120.9	120.9	120.9
飼料効率 (%)	116.8	113.9	106.3	93.5	84.8	68.0
タンパク質効率 (%)	235.2	226.3	220.9	204.5	194.1	164.6

生残率

飼育試験開始時と終了時の尾数から生残率 (終了時尾数×100/ 開始時尾数) を求めた。

増重量

終了時の総魚体重から開始時の総魚体重を減じ, さらに死魚の総体重を補正して増重量を求めた。

飼料効率

増重量×100/ 給餌量の式で求めた。

タンパク質効率

増重量×100/ 給与タンパク質量の式で求めた。

全魚体の分析

開始時に 100 尾, 終了時に各区から 50 尾ずつサンプリングし, 区毎に纏めて全魚体の分析サンプルとした。フードプロセッサーで破碎し, ホモジナイザーで均一化した後分析に供した。水分, タンパク質, 脂質, 灰分は定法で分析した。

血漿の分析

飼育試験終了時に各区から 30 尾ずつサンプリングし, FA100 で軽く麻酔して体表の水をペーパータオルで綺麗にふき取る。尾柄部を鋭利なメスで切断し, 出てくる血液をヘパリン処理した Ht 測定用毛細管を用いて各尾から等量ずつ採血する。血液は区毎にプールし, 3000rpm で 15 分間遠心分離して血漿を採取した。魚の健康状態を反映するとされているグルコース (Glu), 総コレステロール (T-Cho), トリグリセライド (TG), 総タンパク質 (T-Pro) 含量およびアルカリ性フォスファターゼ (ALP) 活性を測定した。

飼料成分の魚体蓄積率

試験飼料の分析値と給餌量, 開始時と終了時の魚体成分分析値などから, 投与された飼料成

分のうち何 % が魚体に蓄積されたかを求めた。

2. 結果

2-1. 飼育成績

飼育試験の結果を表 5 に示す。生残率に区間差は認められなかった。増重量 (= 魚の成長), 飼料効率, タンパク質効率はゴマ油粕の添加量が多くなるに従って悪くなった。

飼料成分と飼育成績の関係を調べたところ, 図 1, 2, 3 に示す様に増重量とゴマ油粕添加量, 飼料のタンパク質含量および飼料の C/P 比との間に強い相関があり, 増重量とゴマ油粕添加量,

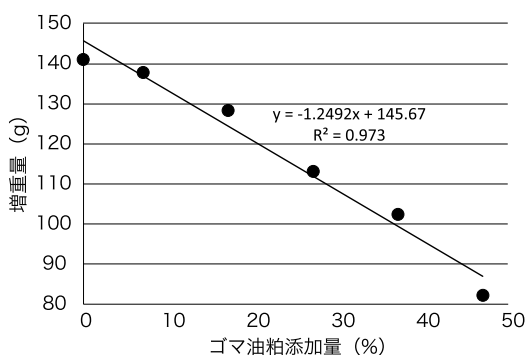


図 1 ゴマ油粕添加量と増重量

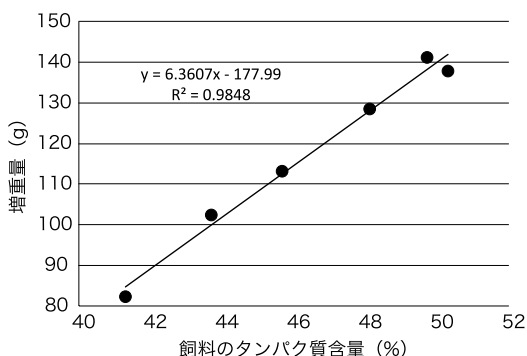


図 2 飼料のタンパク質含量と増重量

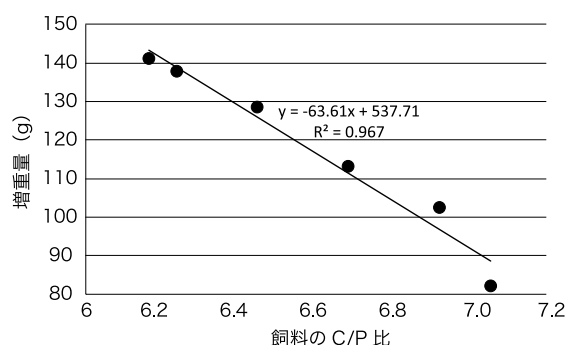


図3 飼料の C/P 比と増重量

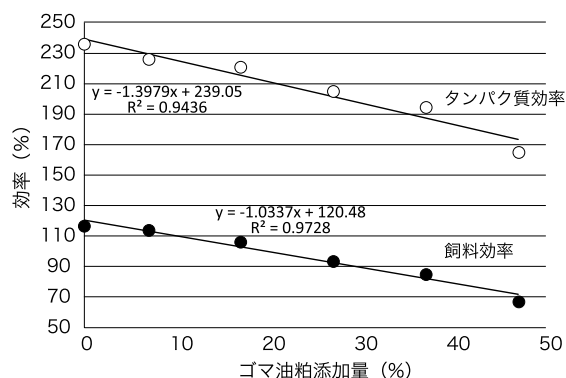


図4 ゴマ油粕添加量と飼料効率, タンパク質効率

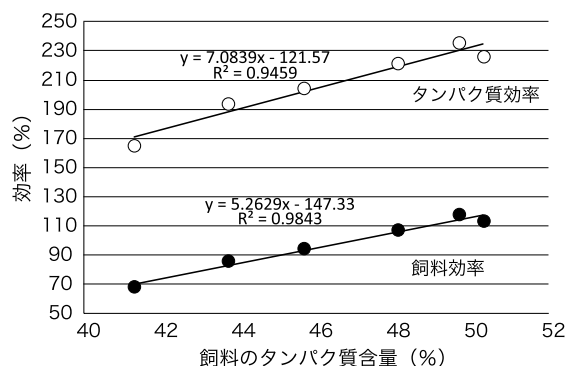


図5 飼料のタンパク質含量と飼料効率, タンパク質効率

C/P 比の間は負の相関, タンパク質含量は正の相関であった。

従来の試験結果から判断して, 飼料成分が有効に利用されていればこの程度の C/P 比なら増重量との間は正の相関になるはずである^{9, 10)}。ところが全く逆の結果であった。これはゴマ油粕の添加量が増重量を規定していることを示す結果であると判断した。ゴマ油粕添加量が多くなれば飼料のタンパク質含量は減少する。従って, ゴマ油粕の添加量が多く, 飼料のタンパク質含量が少ない区ほど増重量が少なくなり, 飼料のタンパク質含量と増重量の間には正の関係が成り立つはずである。図2の結果はその通りになっており, 推測通りの結果であった。

図4, 5にゴマ油粕添加量, 飼料のタンパク質含量と飼料効率, タンパク質効率の関係を示す。ゴマ油粕添加量と両効率の間は負の相関, 飼料のタンパク質含量と両効率の間は正の相関を示した。この結果も予想通りであった。

以上の結果から, ゴマ油粕の添加量が増重量, 飼料効率, タンパク質効率等の飼育成績を規定していることと, 添加量が多くなるに従って飼育成績が悪くなることが分かった。

2-2. 全魚体の分析値

表6に全魚体の分析結果を示す。飼育試験終了時には開始時より水分が減少し, タンパク質, 脂質および灰分含量が増加していた。これは稚魚が成長する時の一般的な変化である。終了時の各区間比較では, ゴマ油粕

表6 全魚体の分析値

時期 試験区	開始時	終了時					
		A	B	C	D	E	F
水分 (%)	84.1	78.7	79.1	79.2	79.0	78.6	78.4
タンパク質	11.3	14.3	14.5	14.2	13.9	13.8	13.0
脂質	3.3	6.4	6.4	6.2	6.0	6.6	7.5
灰分	1.7	2.2	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
タンパク質 (% 乾物)	71.1	67.1	69.4	70.0	66.2	64.5	60.2
脂質	20.8	30.0	30.6	30.5	28.6	30.8	34.7
灰分	10.7	10.3	10.0	10.3	10.0	9.8	9.7

表 7 血漿成分の分析値

試験区	A	B	C	D	E	F
Glu (mg/dL)	77	85	80	90	113	87
T-Chol (mg/dL)	394	388	389	368	458	488
T-Pro (g/dL)	3.2	3.2	3.0	3.1	3.0	2.6
TG (mg/dL)	786	510	438	518	526	334
ALP (IU/L)	373	375	345	349	395	348

表 8 飼料成分の魚体蓄積率

試験区	A	B	C	D	E	F
タンパク質 (%)	35.0	34.4	32.7	30.1	28.1	22.3
脂質	119.0	106.6	93.0	79.6	78.2	73.3
灰分	23.5	20.3	19.3	18.5	17.2	14.5
カロリー	46.7	45.0	41.2	36.5	35.3	31.3

添加量が 7-27% 区 (B-D) はやや水分が多く、それ以上の区 (E, F) になると減少傾向であった。タンパク質含量は湿物ではゴマ油粕添加量が 7% 区 (B) でやや増加し、17% 以上になると減少していた。ところが乾物換算してみると 17% まで増加し、それ以上になると明らかに減少していた。脂質含量は湿物ではゴマ油粕添加量が 27% (D) まで次第に減少し、それ以上になると急激に増加していた。ところが乾物値では 47% 区 (F) のみが高い値を示していた。灰分は湿物では区間差は認められなかったが、乾物換算値では 37% 以上 (E, F) の添加量になるとやや減少傾向を示した。

以上の結果から、脱脂大豆粕をゴマ油粕で代替しても魚体成分に大きな変化は生じないが、魚粉を代替すると代替率が高くなるに従ってタンパク質と脂質含量に影響が出てくることが分かった。脱脂大豆粕の代替で魚体成分に大きな変化が認められなかったのは、ゴマ油粕の添加量が 7% と少なかったためかも知れない。添加量が多くなれば脱脂大豆粕の代替でも大きな影響が出る可能性がある。

2-3. 血漿成分の分析値

表 7 に血漿成分の分析結果を示す。いずれの成分も区間にバラツキがあり、ゴマ油粕添加量との相関はそれ程綺麗ではなかったが、以下の傾向が認められた。Glu 含量はゴマ油粕の添加量が多くなるに従って高くなる傾向があり、

飼料の炭水化物含量と関係しているのではないかと考えられた。TG 含量はゴマ油粕の添加によって飼料の脂質含量が増加しているにもかかわらず減少し、飼料の脂質含量との関係は認められなかったが、T-Chol 含量は 37% 以上の添加区で明らかに高い値を示し、飼料の脂質含量を反映しているのではないかと考えられた。T-Pro 含量は 17% 以上の添加量になると低くなる傾向があり、47% 添加区では明らかに低い値を示した。ALP 活性は 17% 以上の添加区でやや低い値を示した。

これらの成分変化のうち、T-Pro 含量と ALP 活性の変化は重要である。T-Pro 含量は魚の栄養状態を、ALP 活性は魚の成長状態を鋭敏に反映することが知られている。ゴマ油粕の添加量が 17% 以上になると両指標が低くなるのは、ゴマ油粕の添加によって魚の栄養状態が悪くなって成長も抑制されたことを示すものと思われる。

以上の結果から、ゴマ油粕は 17% 以上飼料に添加すべきでないと判断した。

2-4. 飼料成分の魚体蓄積率

表 8 に飼料成分の魚体蓄積率を示す。ゴマ油粕の添加量が増えるに従って飼料のタンパク質、脂質、灰分およびカロリーのいずれも魚体蓄積率が低くなっていた。図 6 にゴマ油粕添加量と飼料脂質の魚体蓄積率、図 7 にゴマ油粕添加量と飼料タンパク質、灰分、カロリーの

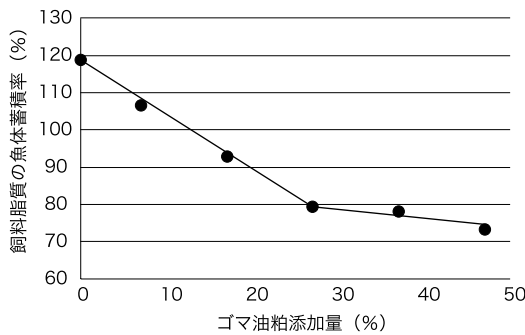


図6 ゴマ油粕添加量と飼料脂質の魚体蓄積率

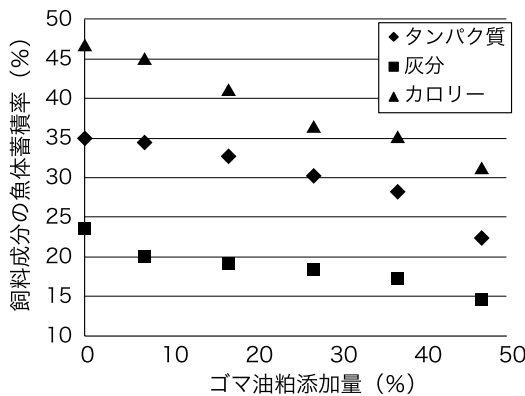


図7 ゴマ油粕添加量と飼料成分の魚体蓄積率

魚体蓄積率の関係を示す。脂質の蓄積率はゴマ油粕の添加量が27%になるまで直線的に減少し、それ以上の添加量になると減少はやや緩慢になった。タンパク質、灰分、カロリー共にゴマ油粕の添加量が増えるに従って略直線的に魚体蓄積率が減少しており、特に37%以上の添加量で減少が著しかった。この結果は直接魚の飼育成績に反映されていた。

以上の結果から、本試験で用いたゴマ油粕はニジマス用飼料の原料として不適切であると判断せざるを得ない。

3. 要約

・本試験に用いたゴマ油粕は飼料への添加量が多くなるに従って飼育成績が悪化し、飼料成分の魚体蓄積率も低下していた。よって、このゴマ油粕はニジマス用飼料の原料として不適切であると判断した。

・ゴマ油粕の炭水化物は消化吸収されている様であるが、脂質は消化吸収されていない可能性がある。

廃棄マヨネーズ

マヨネーズは食用油、酢、卵を主材料にした半固体状のドレッシングである。日本農林規格(JAS)では、マヨネーズは「半固体状ドレッシングのうち、卵黄または全卵を使用し、かつ、必須原材料、卵黄、卵白、タンパク質加水分解物、食塩、砂糖類、香辛料、調味料(アミノ酸等)および酸味料以外の原材料を使用していない物」と規定されている。

毎年賞味期限切れ他で食用に供することが出来なくなった廃棄マヨネーズが相当量出しており、かなりの部分が業者によって有償で焼却処分されている。

マヨネーズは食用植物油を主原料にしているが、植物油は養魚飼料の油脂源として極普通に利用されており、魚がエネルギー源として利用出来る事は既に証明されている。また、マヨネーズは鶏卵やレシチンを含むが、これらの物も魚にとって重要な栄養源であると共に生理活性物質で、特にレシチンは仔稚魚の必須成分である。

マヨネーズはもともとヒトの食品用に厳密な管理下で製造されており、何らかの理由で廃棄品になった物でも、その品質と安全性は他の油脂源に劣らない場合が多い。この廃棄マヨネーズが養魚飼料のエネルギー源として利用出来れば、マヨネーズメーカーは廃棄物量と廃棄物処理費が軽減出来るし、飼料メーカーは安価な油脂源が入手出来ることになる。よって、本試験では廃棄マヨネーズが養魚飼料のエネルギー源として利用出来るか否かを調べることにした。

1. 材料と方法

1-1. 供試マヨネーズ

マヨネーズにも色々な物があり、本試験にはレギュラータイプ(Rと表記)とマスタード添加タイプ(Mと表記)の二種類の廃棄マヨネー

ズ(賞味期限切れ)を用いた。マヨネーズ(R)を分析すると水分:15.0%, タンパク質:2.19%, 脂質:78.7%, 灰分:1.85%と約80%が脂質であった。マヨネーズは原材料に酢酸を含むのでpHが4.06と低く, そのまま原料として使用すると飼料の製造ラインを腐食させる可能性がある。また, 魚類はEPAやDHAの様なn3系高度不飽和脂肪酸(HUFA)を必須脂肪酸として要求する種類が多い。ところがマヨネーズにはn3系HUFAは含まれていない。よってマヨネーズには魚油を併用することが望ましい。

マヨネーズと魚油の混合物をアルカリ液を用いてpHを中性付近に調整出来るか調べたところ, 適切な混合機を用いれば両者は約30秒から1分程度で均一に混ざり, 混合物は魚油に近い流動性を示し, pHも7.0に調整出来る事が分かった。

1-2. 試験飼料

魚油あるいはマヨネーズをある程度の量原料に添加しても飼料が製造できるか否かを予備試験で調べた。魚油を0, 10, 20%の3段階, マヨネーズを0, 10, 20, 30, 40%の5段階の量添加して混合した原料を前述の方法で直径5mm, 長さ約6mmのハードペレットに成型し, 乾燥後飼料の物性を調べた。魚油を20%添加した飼料はボロボロで, 非常に粉が多いのに対し, マヨネーズを40%(油として32%)添加した飼料は柔らかいものの保型性が良く, シットリした感じで, 綺麗なペレットが成型出来, しかも粉が少なかった。この様にマヨネーズを添加した飼料の方が油脂添加量が多いのに破碎強度が高く, しっかりしたペレットになるので, 油その物を用いるよりマヨネーズを用いた方が飼料への油の添加量を多く出来る事が分かった。

予備試験の結果を踏まえ, 表9に示すA-Eの5試験区を設定した。A区が対照区で, 魚粉:67%, 小麦粉:22.8%, トーモロコシ澱粉:4.2%,

表9 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D	E
基本配合 (%) *	100	90	80	90	80
マヨネーズ (R)		10	20		
マヨネーズ (M)				10	20
魚油	4	4	4	4	4
水分 (%)	11.3	5.04	5.95	5.89	5.39
タンパク質	48.5	48.8	45.5	49.1	44.8
脂質	10.5	17.7	22.8	16.9	22.5
灰分	9.94	10.4	9.73	10.2	9.55
炭水化物	19.2	18.2	16.0	18.2	17.5
Cal/100g	326.9	390.9	419.2	384.9	416.7
C/P 比	6.74	8.01	9.21	7.84	9.30

* 魚粉:67%, 小麦粉:22.8%, トーモロコシ澱粉:4.2%, オキアミミール:3%, ビタミン・ミネラル混合:3%

オキアミミール:3%, ビタミン・ミネラル混合:3%より成る基本配合100部に対して魚油を外割で4%添加した。B区とC区はマヨネーズ(R)を基本配合90と80部に対し10と20部, D区とE区はマスタードを添加したマヨネーズ(M)を(R)と同量添加した。なお, B-E区にもA区同様魚油を4%添加した。飼料はハードペレットクランブルである。魚油とマヨネーズは水酸化ナトリウム液を加えて混合し, pHを7.0に調整してからその他の飼料原料に添加した。pH調整後の魚油とマヨネーズの混合物は前述のハードペレットクランブルの製造工程における原料の混合, 粉碎の後に添加し, 加水量を調整してさらに混練し, ペレットマシンに供給するのに適切な物性になるようにした。その後の工程は同じである。この程度の魚油とマヨネーズの添加量であれば, 飼料は柔らかくなるものの, 特に製造上で問題になることは無かった。

飼料の成分はA区飼料の水分含量が他区より多いのでハッキリしないが, 乾物換算してみるとマヨネーズの添加量が増えるに従ってタンパク質, 灰分, 炭水化物含量が減少し, 脂質は増えていた。また, カロリー含量とC/P比も高くなった。

1-3. 飼育試験

ゴマ油粕試験と同じ条件であるが, 供試魚の平均体重は1.4gで, 飼育期間は12月3日から

翌年の2月5日までの2カ月間であった。

1-4. 調査項目

ゴマ油粕試験と同じであるが、血漿成分の分析は行わなかった。

2. 結果

2-1. 飼育成績

表10に飼育試験の結果を示す。生残率に区間差は無かった。また、マヨネーズ添加の有無、マヨネーズの種類の違い等によって飼料の嗜好性に違いは認められなかった。飼料効率とタンパク質効率はマヨネーズの添加量が多くなるに従って高くなり、マヨネーズ (R) と (M) で違いは無かった。

飼料のタンパク質、脂質、Cal 含量や C/P 比等と飼育成績の関係を調べたところ、飼料の C/P 比と飼育成績の間に最も強い相関が認められた。図8に飼料の C/P 比と飼料効率、タンパ

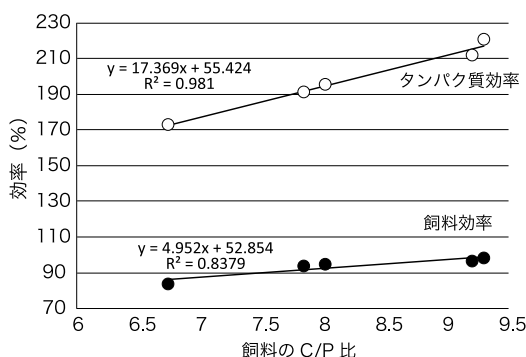


図8 飼料の C/P 比と飼料効率、タンパク質効率

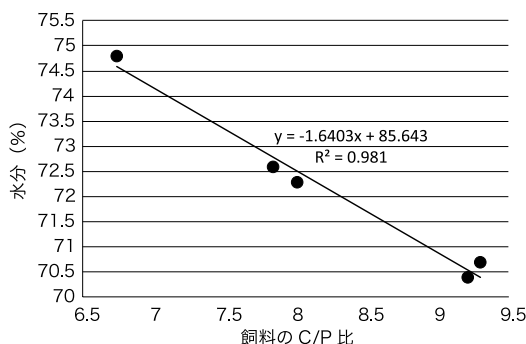


図9 飼料の C/P 比と全魚体の水分含量

表10 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D	E
生残率 (%)	100	98	100	99	100
飼料効率 (%)	83.8	95.2	96.4	93.7	98.7
タンパク質効率 (%)	172.8	195.1	211.8	190.8	220.5

表11 全魚体の分析値

時期	開始時	終了時				
試験区		A	B	C	D	E
水分 (%)	81.7	74.8	72.3	70.4	72.6	70.7
タンパク質	12.3	15.1	14.8	14.4	14.9	14.4
脂質	3.77	8.95	10.1	12.8	10.5	13.0
灰分	1.89	2.23	2.22	2.12	2.36	2.11

ク質効率の関係を示す。両者とも正の相関を示した。この図からマヨネーズの油はニジマス稚魚に有効に利用されていることと、レギュラータイプとマスタード添加タイプで有効性に違いが無いことが分かった。

2-2. 全魚体の分析値

表11に飼育試験開始時と終了時の全魚体の分析結果を示す。開始時に比べ終了時には水分含量が減少し、タンパク質、脂質、灰分含量は増加していた。終了時の各区間比較では、マヨネーズの添加量が増えるに従って水分、タンパク質、灰分含量が減少し、脂質含量が増えていた。図9、10に示す様に飼料の C/P 比と水分、タンパク質含量は負の相関、脂質含量には正の相関が認められた。図11に水分含量と脂質含量、図12に脂質含量とタンパク質含量の関係を示す。いずれも強い負の相関を示した。マヨネーズの添加量が増えるに従って飼料のカ

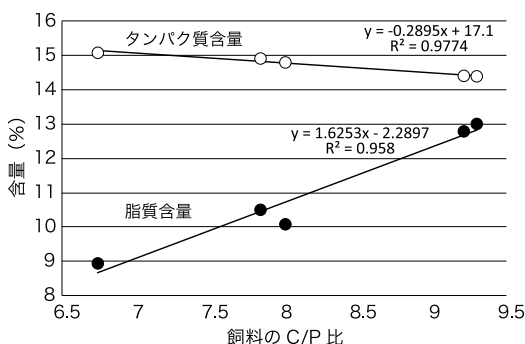


図10 飼料の C/P 比と全魚体のタンパク質、脂質含量

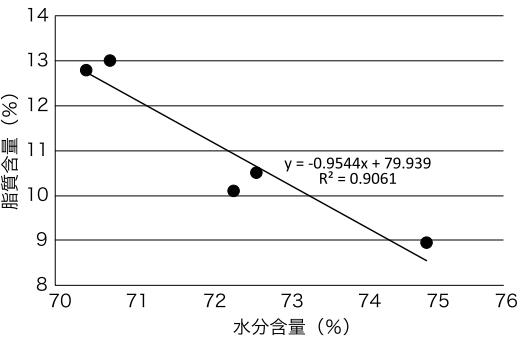


図 11 全魚体の水分含量と脂質含量

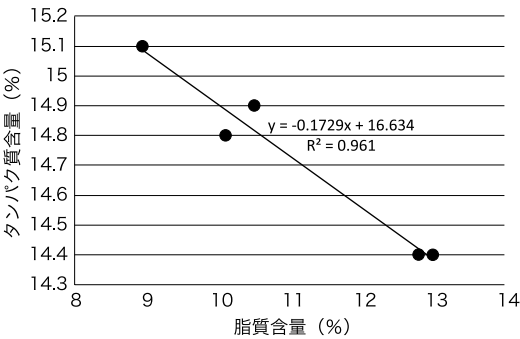


図 12 全魚体の脂質含量とタンパク質含量

ロリー含量が高くなってタンパク質含量が低くなるので、C/P 比は次第に高くなる。マヨネーズの添加量が増えると魚体の脂質含量が増え、水分とタンパク質含量が減少する。この結果は飼料の脂質やカロリー含量が魚体の脂質含量を規定し、魚体の脂質含量が魚体の水分やタンパク質含量を規定している事を示している。マヨネーズ (R) と (M) では魚体成分に及ぼす影響に違いは認められなかった。

2-3. 飼料成分の魚体蓄積率

表 12 に飼料成分の魚体蓄積率を示す。マヨネーズの添加量が多くなるに従ってタンパク質の蓄積率が高くなり、図 13 に示す様に飼料の C/P 比とタンパク質の蓄積率の間には強い正の相関が認められた。これはマヨネーズ (= 脂質) によるタンパク質の節約効果であろう。蓄積率に飼料のタンパク質含量を乗じ、単位量の飼料

表 12 飼料成分の魚体蓄積率

試験区	A	B	C	D	E
タンパク質 (%)	27.8	30.5	31.8	30.1	33.1
脂質	85.9	64.5	66.0	70.0	69.5
灰分	19.8	21.2	21.7	23.1	22.5
飼料含量を乗ずると					
タンパク質	13.5	14.9	14.5	14.8	14.8
脂質	9.02	11.4	15.0	11.8	15.6
灰分	1.97	2.12	2.11	2.36	2.15

を投与した時に魚体に蓄積されるタンパク質量に換算してみると、マヨネーズの添加によってタンパク質の蓄積量は増えるものの、10% 添加と 20% 添加で蓄積量に違いは無く、タンパク質は一定量しか蓄積されていないことが分かった。また、マヨネーズの違いによる差も認められなかった。一方、マヨネーズの添加によって脂質の蓄積率は低くなっているが、添加量による違いは無いように見える。ところが蓄積率に飼料の脂質含量を乗じ、単位量の飼料を投与した時に魚体に蓄積される脂質量に換算してみ

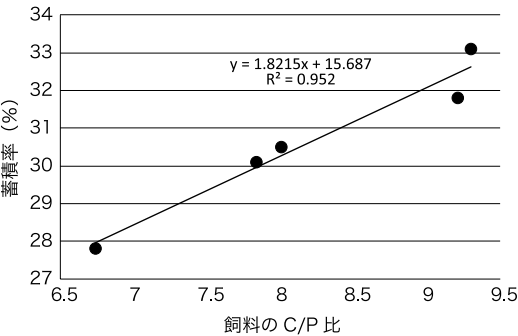


図 13 飼料の C/P 比と飼料タンパク質の魚体蓄積率

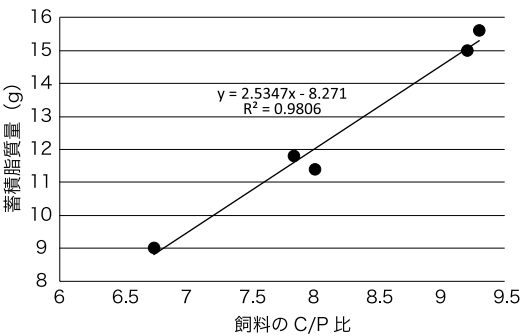


図 14 飼料の C/P 比と脂質の蓄積量

ると、マヨネーズの添加量が多くなるに従って魚体に蓄積された脂質の量も多くなっていた。図 14 に飼料の C/P 比と脂質の蓄積量の関係を示す。マヨネーズの添加量が多くなると飼料の脂質含量が高くなると同時にタンパク質含量は低くなるので C/P 比は高くなる。C/P 比が高くなるに従って魚体への脂質の蓄積量は増え、両者の間には強い正の相関が認められた。これはマヨネーズの脂質は (R), (M) の違いに関係なく吸収され、魚体へ蓄積されたことを示している。

マヨネーズの添加によって灰分の蓄積率も高くなっているが、添加量とマヨネーズの違いによる影響はなかった。蓄積率に飼料の灰分含量を乗じて求めた値でも同様であった。

3. 要約

- ・油その物よりもマヨネーズの形で油を添加

した方が飼料の成形性が良く、綺麗なペレットが出来た。また、より多くの油が添加出来た。

- ・適切な混合機を用いればマヨネーズと魚油は簡単に均一化出来、アルカリ液による pH 調整も容易であった。

- ・マヨネーズの油はニジマスによって有効に利用され、タンパク質の節約効果を示した。

- ・レギュラータイプのマヨネーズとマスタード添加タイプのマヨネーズで有効性に違いはなかった。

- ・以上の結果から、廃棄マヨネーズは養魚飼料の油脂源、エネルギー源として有望であると判断した。

- ・本試験では検討していないが、エクストルーダー飼料の製造法ではハードペレットの製造法より原料の混練性が強いので、より多くのマヨネーズが添加出来、より綺麗な飼料になる可能性がある。

文 献

1. 酒本秀一：養魚飼料原料としての食品廃棄物やバイプロ -1. 菓子粉, 出汁粕, パン屑. *New Food Industry*, **55** (2): 49-57. 2013.
2. 酒本秀一：養魚飼料原料としての食品廃棄物やバイプロ -2. 再生大豆油, ラーメン屑, ビール粕. *New Food Industry*, **55** (3): 45-55. 2013.
3. 酒本秀一：ニジマス用飼料の炭水化物源 -1. *New Food Industry*, **60** (10): 46-56. 2018.
4. 酒本秀一：ニジマス用飼料の炭水化物源 -2. *New Food Industry*, **60** (11): 30-41. 2018.
5. 酒本秀一：ニジマス用飼料の炭水化物源 -3. *New Food Industry*, **60** (12): 49-57. 2018.
6. 酒本秀一：ニジマス用飼料の炭水化物源 -4. *New Food Industry*, **61** (2): 107-120. 2019.
7. 古川厚, 塚原宏子：養魚飼料消化吸収試験の指標物質としての酸化クロムの湿式定量法について. *日本水産学会誌*, **32** (6): 502-506. 1960.
8. 吉中禮二：タンパク質・魚・貝・海藻の栄養機能 - 日本型食事のすすめ - (吉中禮二著), 恒星社厚生閣, 東京, 53-68. 1993.
9. 酒本秀一：アマゴ用飼料 -1. 成長段階別至適タンパク質 / カロリー比 (CP 比). *New Food Industry*, **54** (11): 56-66. 2012.
10. 酒本秀一：ニジマス用飼料の炭水化物源 -5. *New Food Industry*, **61** (3): 219-230. 2019.

漢方の効能

Efficacy of traditional medicine “KAMPO”

(6) 薬酒について

YAKUSHU

鈴木 龍一郎 (SUZUKI Ryuichiro)*

* 城西大学 薬学部薬科学科 生薬学研究室

読者の皆さんは薬酒^{やくしゅ}をご存知でしょうか。薬酒と聞いて真っ先に養命酒製造株式会社が製造している「養命酒」を思い浮かべた人も多いと思います。もしかしたら、お正月に頂く屠蘇散^{とそさん}を思い出した方もいたかもしれません。今回はこの「薬酒」について少しお話をしたいと思います。

薬酒とは、その字が示すように酒からなる薬のことです。つまり酒でもあり、薬でもあるということになります。酒は昔から百薬の長^{ひゃくやくのちやう}といって、気分を高揚させたり、血行・血流を促進させたり、食欲を増進させたりと様々な効果がありますので、お酒そのものが薬でもあります。お酒好きのひとにとっては、お酒を飲む理由には事足りないと思いますが、このようにお話しすると新たな飲む動機を与えてしまいそうです。もちろん飲み過ぎは逆に健康を害してしまいますので注意が必要です。

お酒だけでも（適量なら）十分に健康に対して良い効果があるのに、そのお酒に薬を併せた薬酒とはいったいどのようなものなのでしょうか。薬酒の歴史はとても古く、紀元頃には薬をお酒に浸して飲んだり、お酒で割って飲んだりする方法がすでに中国には存在していたようです。1578年に李時珍^{りじちん}が著した本草書「本草綱目」には69種類もの薬酒が載っています。一方、日本に目を向けてみると我が国で最も古い薬酒は屠蘇酒^{とそしゅ}になります。平安時代に宮中で祝儀に用いられていた屠蘇酒も、その後は庶民へと広がっていったようです。屠蘇酒は正月三が日に無病息災・延命長寿を願って飲むものですが、7種類程度の生薬（桂皮、花椒、陳皮、桔梗、丁字、白朮、防風など）から構成される屠蘇散を、日本酒と味醂^{あじ}或いは砂糖を加えたものに6～7時間浸漬したものです。屠蘇散には身体を温めたり、胃腸の働きを助けたり更には、風邪の予防に効果のある生薬が含まれています。

もちろん世界にも薬酒にあたるものが存在しています。もっとも私たちに身近なものは、欧州のホットワインではないでしょうか。イギリスではマルドワイン（mulled wine）、フランスではヴァン・ショー、ドイツではグリューワインと呼ばれるもので、赤ワインにオレンジピール（陳皮に良く似たもの）やシナモン（桂皮）、クローブ（丁字）などの香辛料に砂糖やシロップなどを火にかけて温めたもので、クリスマスのころに身体を温めるために飲まれるものです。最近ではスーパーなどでも簡単に手に入るので、ハーブに興味がある方は是非試してみてください。甘いのでとても飲み易く、クローブやシナモンの香りがたって身体も温まります。

薬酒の薬効は、含まれるエタノールそのものの効果と生薬に含まれる有効成分によって現れます。その生薬の有効成分は、生薬を水で抽出した場合と、薬酒のようにアルコールによって抽出した場合とでは異なることが予想されます。一般的にアルコールで抽出した方が、油によく溶ける、つま

り疎水性成分が効率的に抽出されてきます。有効成分が疎水性成分であれば、エタノールで抽出したほうが効果的となります。しかしこれは驚くべきことですが、生薬に含まれている有効成分が何であるか実はあまりよく分かっていません。くすりである生薬は紀元前より使われていますが、その生薬がどうして効くのか分からないものの方が圧倒的に多いと思います。従って、生薬を水で抽出した方が良いのか、エタノールで抽出した方が良いのかはそれぞれの抽出エキスを飲んでみて、その違いを確かめてみないと実は分からないのです。

そこで日本酒と同じアルコール濃度（15%）に調整したエタノール水溶液と水とで屠蘇散をそれぞれ抽出した場合、抽出される成分が異なるかの検討を行ってみました。市販の屠蘇散（株式会社立石春洋堂、桂皮、山椒、陳皮、桔梗、大茴香、丁字、浜防風がティーバッグに入っているもの（図1）を180 mLのエタノール水溶液と水にそれぞれ別々に浸し、室温で7時間抽出した後、抽出液を脱脂綿でろ過し、得られたろ液の溶媒留去を行いました。溶媒留去後の抽出物の収量は、それぞれ15%エタノール水溶液抽出物（0.512 g）、水抽出エキス（0.509g）でした。15%エタノール水溶液で抽出しても、水で抽出して収量に大差はありませんでした。またそれぞれの抽出物の成分を比較するため、薄層クロマトグラフィー（TLC）を実施しました。結果、15%エタノール水溶液で抽出した場合と水で抽出した場合では抽出される成分にも大きな違いは認められませんでした。これらのことから、屠蘇散そのものの効果は水に浸漬させたものでも、15%エタノール水溶液に浸漬させたものでも大きな違いはないのかもしれませんが、もちろん今回の分析条件では、たまたま抽出溶媒による違いを見いだせなかった可能性もあります。ただ、屠蘇散を頂くときは15%のエタノール（実際には日本酒ですが）と一緒に口にするため、エタノール（日本酒）との相乗効果が認められる可能性がとても大きいと思われます。古来より屠蘇散は、日本酒に一晚浸漬させたものを頂いておりましたので、そこには何らかの理由があるのだと思います。



図1 検討に用いた屠蘇散
（株式会社立石春洋堂）

薬酒は確かに有効成分の吸収を改善したり、速効性を高めたり、さらには飲み易いため毎日飲むのには適していますが、薬酒に用いられる薬は植物の根や葉、果実などの生薬になります。くれぐれも薬局で処方される医薬品の効果を強めたいからとか、毎日おいしく服用したいからと、好きなお酒に薬を溶かして飲んだり、お酒と一緒に飲んだりするのは禁物です。薬の種類によっては、アルコールと一緒に服用することで効果が強く出すぎたり、逆に効かなくなったりすることがありますので、ご注意を。医薬品は用法・用量を守って正しく服用して下さい。

連絡先：城西大学 薬学部薬科学科 生薬学研究室
〒350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1
TEL：049-271-8089
E-mail: ryu_suzu@josai.ac.jp

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)

オキナグサ *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Bercht. et C. Presl (= *Anemone cernua* Thunb.) (キンポウゲ科 Ranunculaceae)

連絡先：城西大学薬学部生薬学教室
shiratak@josai.ac.jp

日に日に暖くなる春爛漫の4月、最近では、山の中でほとんど見かけなくなった植物の一つにオキナグサ（翁草）があります。日本、朝鮮半島、中国東北部に分布し、日本では本州、四国、九州の山地の日当たりのよい草原や河川の堤防などに生育しています。根出葉は2回羽状複葉で、長い柄があり、小葉はさらに深く分裂しています。茎につく葉は3枚が輪生し、葉や花茎など、全体が白い長い毛に包まれています。花の咲く頃、花茎は10cm くらいの高さですが、花後の種子がついた白い綿毛がつく頃は30～40cm になります。花期は4～5月で、暗赤紫色の花を花茎の先端に1個つけ、ややうつむいて咲きますが、次第に上向きに変化します。長さ2～2.5cm のがく片が6枚あり、花弁のように見え、たくさんある雄しべのうち最も外側のものがこん棒状に膨らんだ仮雄しべとなり蜜を分泌します。名前の由来は、白く長い綿毛のある果実の集まった様子を老人の頭にたとえたもので、ネコグサ、ネコバナともいわれ、その他、日本各地でオバシラガ、ババシラガ、カワラノオバサンなどとよばれ、かつては日本中で親しまれた植物だったようです。しかし、現在、その数は、激減し、絶滅危惧Ⅱ類 (VU) (環境省レッドリスト) に指定されています。オキナグサが減少した要因としては、自然環境の変化や園芸目的の採集などがあげられます。

乾燥した根は、ハクトウオウ（白頭翁、*Pulsatillae Radix*）といい、消炎、収斂、止血、止瀉薬として、熱性下痢、腹痛、痔疾出血などの治療を目的に白頭翁湯、^{はくとうおうとう}白頭翁加甘草阿膠湯などの漢方処方に用いられます。成分には、全草に2-ブテノライドの protoanemonin、その配糖体の ranunculin (抽出過程で生成する2次的産物と考えられる)、トリテルペンの hederagenin, pulsatillic acid, そ



写真1 オキナグサ（芽生え）



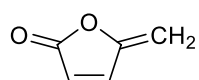
写真2 オキナグサ（花）



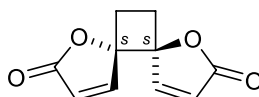
写真3 オキナグサ (若い果実)



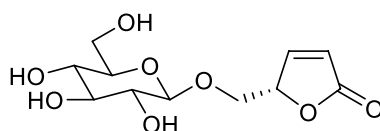
写真4 オキナグサ (瘦果)



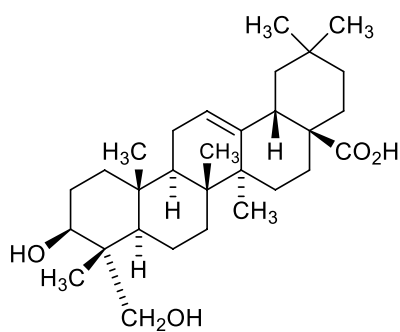
protoanemonin



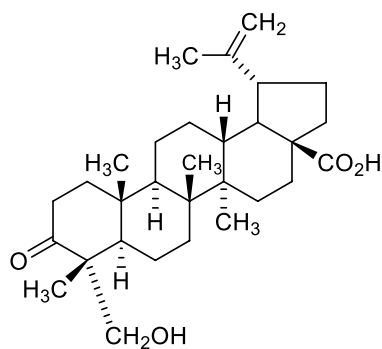
anemonin



ranunculin



hederagenin



pulsatilllic acid

図1 成分の構造式

これらの配糖体（サポニン）を含み、有毒植物の一つに数えられています。植物の液汁に触ればウマノアシガタ *Ranunculus japonicus*, カザグルマ *Clematis patens*, センニンソウ *Clematis terniflora* などと同様に皮膚炎を引き起こすこともあり、また、誤食すれば腹痛、嘔吐、血便のほか、痙攣や心停止（protoanemonin は心臓毒）に至る可能性もあります。protoanemonin は皮膚や粘膜に対する刺激性が強く、引赤、発泡性がありますが、日干しにより二量体の anemonin に変化し刺激性や発泡性は無くなります。

同属植物にヒロハオキナグサ *P. chinensis* があり、両者はどちらも瘦果に^{そうか}白い毛が生えていますが、オキナグサは花が下向きに、ヒロハオキナグサは上を向いて咲きます。一般に中国では、ハクトウオウ^{はくじょう}という^{はくじょう}と、ヒロハオキナグサを指します。中国で名前の由来となった白茸^{じゅうもう}は根茎の頭部を指しますが、オキナグサの根茎の頭部に毛は無く、ヒロハオキナグサには白色の絨毛が生えています。また、現在、オキナグサの仲間であるセイヨウオキナグサ *P. unlaris* の抽出エキ스는前立腺肥大の医薬品原料になることが知られています。



写真5 生薬：ハクトウオウ（白頭翁）



デンマークのオンラインスーパー

今回は、デンマークの多様化する食料品の購入方法、特にオンラインスーパーについて紹介したいと思います。

日本でも近年インターネットやスマートフォンの普及、共働き夫婦の増加やオンラインスーパーの利便性などの背景から、インターネットで食料品を購入し、家まで配達という方法を使って日々の買い物をしている人が多くなっています。ここデンマークでも同じように、家のドアまで宅配してくれるサービスが続々と登場し、普及しています。

インターネットで買い物して宅配するサービスは、スーパーに行く時間の取れない忙しい共働き家族には大変助かるサービスです。また、スーパーまで出向いてたくさんの買い物をできない老人や、小さな子供のいる家庭などにも、大変便利です。さらに、一般の会社でも、社員の誰かが外出する必要がないため、オフィスで使う食料品（コーヒーやスナックなど）のオーダーなどにも利用されています。デンマークは最低賃金が先進国の中でも高いため、宅配などの労働集約的なサービスは、消費者にとって高額になってしまうのでは？と思いがちです。しかし、オンラインスーパーの大手、Nemlig.Com（ネムリドットコム）の宅配料金は9 クローネから40 クローネ（200 円から800 円）ほどの範囲です。宅配の需要が集中するような時間帯や、宅配する家庭の少ない地域などは値段が高くなったり、直前のオーダーは、数日前にオーダーしておく場合に比べて割高になったりしますが、注文時に、自分の好きな時間帯と配達料金を選ぶことができます。入社する前の早朝に宅配してもらったり、夕飯を作る前に配達してもらったりと時間帯も幅広く、1 時間単位で選択することができます。

受け取り時には、誰かが家にいることが基本的な条件となりますが（食料品なので食品安全面から、直接



食料品を配達するバン



冷蔵、冷凍、常温商品が別々にビニールに入れて配達される



渡すことを基本にしている)、留守中にドアの前に置いておく、というアレンジをすることも可能です。デリバリー時には、冷凍食品、冷蔵食品、常温食品というように分かれてビニール袋に入ったものを受け取ることになります。このビニール代金として、Nemlig.Comの場合は200円ほど支払う必要があります。さて、労働集約的なサービスである宅配ですが、ドライバーの多くは外国人、つまり移民である場合が多く、デンマーク語や英語が流暢にしゃべれなくてもあまり支障がないため、移民が活躍できる業界なのかもしれません。日本でも労働力不足の背景から、移民を積極的に受け入れていこうという動きがありますが、ここヨーロッパでは移民の受け入れに関しては、一歩も二歩も先をいっている社会です。

それでは、オンラインスーパーに陳列？されている商品を見てみると、日常使う大抵のものは品揃えしており、通常のスーパーと同様に販促商品や、複数買うとディスカウントになる商品もあります。また、主食の料理を選んで、それに必要な材料を一気にカートに入れることも可能です。もちろん作り方レシピも同時にゲットできます。またオンラインストアでは、プライスマッチという方式を使用しているところも多く、別のお店で、同様の品物が安く売られている場合は、それを証明すれば同じ値段に値引きしてくれる、というものです。プライスマッチを実施しているとすれば、法外な値段で品物が売られていることはないと考えられるので、安心して買い物ができるといわけです。

オンラインスーパーのマイナス面といえば、欲しい品を手にとって見られないため、野菜の新鮮度や、果物の熟れ具合などがわからないことや、大きさが正確に把握できない(思ったより大きな

きゅうりとか) がありますが, 今後, 消費者ごとの嗜好データや, 過去の購入履歴などが, AIで分析されて, 個人の好みや嗜好によりあった買い物がオンラインでできるようになるかもしれません。

オンラインスーパーの他にも, 宅食サービスや, ケータリングサービスなど, 食料品の入手の方法がどんどん多様化しています。それを支えるインターネットやパソコン, スマートフォン, 電子決済などのインフラは, ここデンマークではかなり整備されています。また食品を提供する側も, EU 圏内から, 安くて美味しい食料品を取り揃えたり, 移民を多く雇って利便性の高いサービスを提供するなど, 今後さらに発展する可能性を後押しているよう見えます。

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

ニューフードインダストリー 第61巻 第 4 号

印刷 平成 31 年 3 月 25 日

発行 平成 31 年 4 月 1 日

発行人 渡邊 力

編集人 今西 和政

発行所 エヌエフアイ合同会社

〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302

T E L : 042-312-0836 (代表)

F A X : 042-312-0845

振込先: 三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814

多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817

ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク

定 価 本体2,000円 + 税 (送料100円)

e-mail: newfood@newfoodindustry.com