

New Food Industry

2020

3

New food indust. 62 (3): 2020.

原 著

◆植物発酵液SWの美白効果および肌健全効果

解 説

◆フレイルとその予防としての栄養管理について

特別寄稿

◆新型コロナウイルス感染症に対する最新知見と有効な漢方薬

研究解説

◆クロレラエキ스가豆腐味噌漬に与える影響

製品解説

◆ α -オリゴ糖(α -シクロデキストリン)によるアレルギー疾患の改善効果

◆トマト種子エキスおよび含有サポニンの皮膚細胞外マトリックスに及ぼす影響

漢方の効能

◆細胞傷害性物質の除去およびティートリー精油の
配合によるマスティック薬効の増大の試み

New Food Industry Editorial Board

■ボードメンバー敬称略(五十音順)

大石	隆介	Ryusuke Oishi	明海大学 経済学部経済学科
岡	希太郎	Kitaro Oka	東京薬科大学
具	然和	Yeunhwa Gu	純真学園大学 放射線技術科学科
古賀	邦正	Kunimasa Koga	(一財)自然環境研究センター
齋藤	忠夫	Tadao Saito	東北大学
坂上	宏	Hiroshi Sakagami	明海大学歯科医学総合研究所(M-RIO)
史	海霞	Haixia Shi	上海交通大学医学院第九人民医院
白瀧	義明	Yoshiaki Shirataki	城西大学薬学部生薬学講座
須見	洋行	Hiroyuki Sumi	倉敷芸術科学大学
瀬口	正晴	Masaharu Seguchi	神戸女子大学, 日本穀物科学研究会会長
早田	邦康	Kuniyasu Soda	自治医科大学附属さいたま医療センター
津田	孝範	Takanori Tsuda	中部大学応用生物学部食品栄養科学科
友村	美根子	Mineko Tomomura	明海大学 総合教育センター
日比野	康英	Yauhide Hibino	城西大学大学院 薬学研究科
豊崎	俊幸	Toyosaki Toshiyuki	香蘭女子短期大学 食物栄養学科
牧	純	Jun Maki	松山大学薬学部 医療薬学科
増田	宜子	Yoshiko Masuda	松本歯科大学 歯科保存学講座
松郷	誠一	Seiichi Matsugo	金沢大学
宮尾	茂雄	Shigeo Miyao	東京家政大学教授
山口	正義	Masayoshi Yamaguchi	University of California, Los Angeles (UCLA), 医学部
山田	正子	Masako Yamada	東京家政学院大学 現代生活学部 食物学科
肖	黎	Li Xiao	日本歯科大学 生命歯学部薬理学講座
渡部	保夫	Yasuo Watanabe	愛媛大学大学院農学研究会

『 α -オリゴ糖』 糖質で初の機能性関与成分！

【食事と共に 5g 摂取で食後の血糖値の上昇抑制効果を発揮】

糖質を含む食事とともに1回5g以上の「 α -オリゴ糖」を摂取することによって健常人における食後血糖値の上昇抑制効果について、臨床試験のシステマティックレビューを行い検証、その効果が示されました。

【1日 6g 摂取（毎食 2g 摂取）で小型 LDL* 低減効果を発揮】

*小型LDLとは、LDL-コレステロールが含まれているLDL粒子の中で、サイズが小さな粒子のことです。
動脈硬化を引き起こすのは大型LDLではなく小型LDLであることが明かとなっており、冠動脈疾患などに対する真のリスクマーカーとして注目されています。

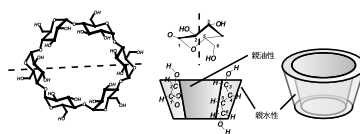
α -オリゴ糖（ α -シクロデキストリン）

α -オリゴ糖の分子構造と3次元構造

は

「ただの食物繊維」

ではありません！



食後の血糖値上昇を抑える
難消化性 α （アルファ）オリゴ糖



-シクロデキストリンの機能を最大限に発揮する-

株式会社シクロケムバイオ

URL: www.cyclochem.com/cyclochembio

東京本社 : Tel.03-6262-1511

神戸本社 : Tel.078-302-7073



好評発売中

- A5 版 / 248 ページ
- 定価：(本体 3,500円+ 税)
- 発行：食品資材研究会



■ 著者 / 山口 正義 (やまぐち まさよし)

骨の健康と食因子

骨粗鬆症の予防と修復へのアプローチ

- 第1章 ホルモンと生体機能調節
- 第2章 ホルモンの細胞内への情報伝達とそのしくみ
- 第3章 カルシウム代謝とそのホルモン調節
- 第4章 骨代謝とそのホルモン調節
- 第5章 老化と骨カルシウムホメオスタシス
- 第6章 栄養性ミネラルと骨粗鬆症の予防
- 第7章 生体微量元素と骨粗鬆症の予防
- 第8章 骨粗鬆症を予防する食品由来生理活性因子
- 第9章 骨粗鬆症を予防する食品素材
- 第10章 複合食因子の骨効果と新規サプリメントの開発

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

原 著

■ 植物発酵液 SW の美白効果および肌健全効果

Effects of Liquid of Fermented Plant Extract SW on skin whitening and the maintenance of skin soundness

本藤 和彦, 鈴木 直子, 山下 慎一郎, 吉田 雄介 157

解 説

■ フレイルとその予防としての栄養管理について

窪田 倭 169

特別寄稿

■ 新型コロナウイルス感染症に対する最新知見と有効な漢方薬

肖 黎 181

研究解説

■ クロレラエキ스가豆腐味噌漬に与える影響

蒲池 加寿子 185

連載解説

■ 新解説 グルテンフリー食品への米の利用 (1)

瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 196

製品解説

■ α -オリゴ糖 (α -シクロデキストリン) によるアレルギー疾患の改善効果

近本 啓太, 古根 隆広, 寺尾 啓二 205

■ トマト種子エキスおよび含有サポニンの皮膚細胞外マトリックスに及ぼす影響

Effect of tomato seed extract and its major saponins on extracellular matrix in skin

竹田 翔伍 211

会 告

■ 腸内細菌学会 『腸内細菌と宿主の共生—ライフコースの健康と病気を紐解く—』

204

連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

- フキ *Petasites japonicus* (Siebold et Zucc.) Maxim. subsp. *japonicus*
(キク科: Compositae APG 体系: Asteraceae)

白滝 義明 218

連載 デンマークの通信

- デンマークの Flødebolle

Naoko Ryde Nishioka 222

Chinese Medicinal Food 中国医食レポート

- Chinese yam for medicine and food 中国ヤムの医療および食材としての応用

Haixia Shi and Hiroshi Sakagami 224

連載 漢方の効能

- 細胞傷害性物質の除去およびティートリー精油の配合によるマスティック薬効の増大の試み

両角 旦, 渡辺 秀司, 浜田 信城, 鈴木 光雄,
遠山 歳三, 佐々木 悠, 鈴木 直美, 坂上 宏 227

Importance of international communication skills

- Experience and overview of a Mexican student in academic exchange at Meikai University

Ángel Paulino-González, Hiroshi Sakagami, René García-Contreras,
Yosuke Iijima and Masahiko Kobayashi 233

世界から、優れた「自然の恵み」を提供します

アンテスの母なる穀物 **キヌア**



南米アンテス原産のヒユ科アカザ亜科の雑穀です。インカ帝国の時代より食され、栄養価の高さから伝承的に「母なる穀物」として重用されてきました。食物繊維や鉄・マグネシウムなどのミネラル、すべての必須アミノ酸を含む、栄養バランスに優れたグルテンフリーの雑穀で、スーパーフードとして世界的にも注目されています。

“茹でる” “炊く” が1番ポピュラーな食べ方で、フクフクとした食感を楽しめます。スープ・雑炊・サラダ・雑穀米など様々な料理に使われています。

取扱製品

- ◆キヌア粒
- ◆有機キヌア粒

植物発酵液 SW の美白効果および肌健全効果

本藤 和彦 (HONDOU Kazuhiko)^{1,*}

鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)², 山下 慎一郎 (YAMASHITA Shin-ichiro)², 吉田 雄介 (YOSHIDA Yusuke)²

Key Words: 植物発酵物, 美白効果, 肌健全効果, 抗酸化作用, ミトコンドリア

Effects of Liquid of Fermented Plant Extract SW on skin whitening and the maintenance of skin soundness

Authors: Kazuhiko Hondou ^{1*}, Naoko Suzuki ², Shin-ichiro Yamashita ², Yusuke Yoshida ³

***Corresponding author:** Kazuhiko Hondou ¹

Affiliated institutions:

¹Yagumo Kousan Co., Ltd.

5F F&T Bldg., 2-19-6 Shimo-meguro, Meguro-ku, Tokyo 153-0064, Japan.

²ORTHOMEDICO Inc.

2F Sumitomo Fudosan Korakuen Bldg., 1-4-1, Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo, 112-0002, Japan.

³ACEL, Inc.

SIC-2 2611 Sagamihara Incubation Center, 5-4-30 Nishi-hashimoto, Midori-ku, Sagamihara-shi, Kanagawa 252-0131, Japan.

Key Words: fermented plant extract, skin whitening, skin soundness, antioxidant effect, mitochondria

Objective: To assess the effect of liquid of fermented plant extract SW (LFPE-SW), which is produced from various fermented fruits and vegetables and contains low molecular weight collagen, on skin whitening and the maintenance of skin soundness.

Methods: To evaluate skin whitening effects of LFPE-SW, melanin synthesis in melanocyte and inhibition rate of tyrosinase activity by LFPE-SW were measured. To evaluate the maintenance of skin soundness, the following fibroblast analyses were carried out after exposure to LFPE-SW: total number of viable cells, number of mitochondria and production of type I collagen. Moreover, the antistress effects of LFPE-SW were evaluated by assessing skin dryness, oxidation, ultraviolet (UV) light and gene expression of growth factors in epidermal cells.

Results: The application of LFPE-SW led to a significant decrease in melanin synthesis in melanocytes and significant inhibition of tyrosinase activity. In fibroblasts, exposure to LFPE-SW resulted in enhancement of mitochondrial activity, promotion of antisenesence and increased synthesis of type I collagen. In epidermal cells, LFPE-SW exhibited antistress effects, including reducing dryness, oxidation and UV and promoting the gene expression of epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2.

Conclusions: We conclude that LFPE-SW has skin whitening effects and contributes to the maintenance of skin soundness. In addition, LFPE-SW may have antistress effects and facilitate skin repair.

* 責任筆者：本藤和彦

¹ 八雲香産株式会社 〒153-0064 東京都目黒区下目黒 2-19-6 F&T ビル 5 階 /

² 株式会社オルトメディコ 〒112-0002 東京都文京区小石川 1-4-1 住友不動産後楽園ビル 2 階 /

³ 株式会社エーセル 〒252-0131 神奈川県相模原市緑区西橋本 5-4-30 さがみはら産業創造センター SIC-2 2611 号室 /

抄録

目的

本研究では、様々な果実や野菜を混合して発酵させた植物発酵液 SW（低分子コラーゲン含有）（以下、植物発酵液 SW とする）の美白効果および肌健全効果を評価した。

方法

美白効果については、メラノサイトを用いて植物発酵液 SW 添加時のメラニン産生量を測定した。また、チロシナーゼ活性阻害率を測定した。肌健全効果については、線維芽細胞を用いて植物発酵液 SW 添加時の生細胞数、ミトコンドリア量、I 型コラーゲン産生量を測定した。表皮細胞を用いて植物発酵液 SW の乾燥、酸化、紫外線に対するストレス保護作用、成長因子遺伝子発現量を測定した。

結果

植物発酵液 SW の処理により、メラノサイトではメラニン産生量が有意に減少した。また、チロシナーゼ阻害作用が有意に認められた。線維芽細胞においては、ミトコンドリア活性の増加が認められた。さらに、抗老化作用および I 型コラーゲンの産生が亢進した。表皮細胞では、乾燥、酸化、紫外線に対してストレス保護作用を示すことが確認され、EGF、FGF-2 の遺伝子発現が促進された。

結論

植物発酵液 SW は美白作用、肌・真皮層の健全化をもたらす可能性が考えられた。加えて、皮膚におけるストレス防御および修復に寄与する可能性が示された。

緒言

植物発酵液は、酵素栄養学の創始者であるアメリカのエドワード・ハウエル博士が提唱した、「生の野菜や果物などに含有される酵素を摂取すると食物の消化が助けられ、体内の消化酵素が温存されることで体内の代謝酵素が活性化される」という理論¹⁾に基づいて開発された食品である。植物発酵液 SW（低分子コラーゲン含有）（以下、植物発酵液 SW とする）に含まれる植物発酵物は、パイナップル、バナナ、マンゴー、メロン、リンゴなどの果実やアスパラガス、ダイコン、タマネギ、ニラ、ニンジン、ニンニク、ホウレンソウなどの野菜を、酵母と乳酸菌により発酵させた産物である。原料である果実や野菜は抗酸化作用を有することが報告されているほか²⁾、その発酵産物である植物発酵物について、*in vitro* で抗酸化作用が確認され³⁾、ヒト試験において酸化・抗酸化バランスの改善⁴⁾が認められている。体内における酸化・抗酸化バランスの破綻には、活性酸素種（reactive oxygen species; ROS）の主な発生源であるミトコンドリア機能の低下が関与するとされるため⁵⁾、植物発酵物が ROS を除去したことでミトコンドリア機能が回復し、体内における酸化・抗酸化バランスが改善された可能性があった。また、ROS は皮膚に紫外線が当たった時や炎症反応

が起こった時に細胞内で発生することが知られており^{6,7)}、肌のターンオーバー機能低下やそれに起因する色素沈着との関連も報告されているため⁸⁾、植物発酵液 SW の抗酸化作用は ROS 除去を介して美白効果や肌機能の向上をもたらす可能性がある。

実際に植物発酵物を摂取した者において肌の調子が良いという体感の変化が認められていることから⁴⁾、植物発酵液 SW は肌の代謝機能にも影響を与える可能性がある。しかし、抗酸化作用およびミトコンドリア機能の向上を介した植物発酵物の美白効果および肌健全効果についてはほとんど検証が進んでいない。そこで本研究では、植物発酵液 SW の肌に対する機能性に着目し、細胞試験において美白効果および肌健全効果を検証することを目的とした。

材料と方法

1. 材料

本研究で実施した各種試験では次に記述した細胞、試薬および機器を用いた。

細胞は、正常ヒト線維芽細胞 NHDF（AD）（クラボウ）、正常ヒトメラノサイト（ThermoFisher Scientific）、正常ヒト表皮細胞 NHEK（AD）（クラボウ）を用いた。

試薬および機器は次に記述した通りであった。植

物発酵液 SW (八雲香産(株)), DMEM 培地 (ナカライテスク(株)), Medium254 培地 (Life Technologies), FBS (Invitrogen), D-PBS (-) (日水製薬(株)), 2.5 g/l-Trypsin/ 1 mmol/l-EDTA Solution (ナカライテスク(株)), 0.05% Trypsin-EDTA (Life technologies), Penicillin-streptomycin solution (ナカライテスク(株)), HMGS (Life technologies), HuMedia-KG2 (クラボウ), 生細胞数測定試薬 SF (ナカライテスク(株)), アスコルビン酸 (富士フイルム和光純薬(株)), コウジ酸 (富士フイルム和光純薬(株)), アルブチン (LKT Laboratories), N-Acetyl-L-Cysteine (以下 NAC; 富士フイルム和光純薬(株)), 1-Phenyl-2-thiourea (以下 PTU; 富士フイルム和光純薬(株)), メラニン (SIGMA-ALDRICH), NaOH (富士フイルム和光純薬(株)), マッシュルーム由来チロシナーゼ (SIGMA-ALDRICH), L-DOPA (富士フイルム和光純薬(株)), リン酸二水素カリウム (富士フイルム和光純薬(株)), リン酸水素ナトリウム (富士フイルム和光純薬(株)), ヒトコラーゲンタイプ 1 ELISA (株エーセル), レスベラトロール (SIGMA-ALDRICH), N-Methyl-L-Serine (以下, メチルセリン; SIGMA-ALDRICH), MitoTracker Mitochondrion-Selective Probes (Invitrogen), チアゾリルブルーテトラゾリウムブロミド (以下 MTT; SIGMA-ALDRICH), ドデシル硫酸ナトリウム (以下 SDS; 富士フイルム和光純薬(株)), 2 mol/L Hydrochloric acid (SIGMA-ALDRICH), Hoechst 33342 solution (株同仁化学研究所), SPiDER-β Gal (株同仁化学研究所), HuMedia-KG2 (クラボウ), ヒアルロン酸ナトリウム塩腺疫菌由来 (SIGMA), 過酸化水素 (富士フイルム和光純薬(株)), FastLane Cell cDNA kit (QIAGEN), SYBER Premix Ex Taq 5 mL (タカラバイオ(株)), Oligo nucleotides (primers) (FASMAC), 24 ウェルプレート (住友ベークライト(株)), 96 ウェルプレート (greiner Bio-one), EL Lamp, 8 W, UVLMS-38, 100 V (Analytik Jena), UVX Radiometer (Analytik Jena), Radiometer Sensor UVX-36, 365 nm (Analytik Jena), Light Cycler 96 system (Roche)。

1. 細胞毒性試験

正常ヒト線維芽細胞の培地は, DMEM, 10%FBS, 1% 抗生物質であった。正常ヒトメラノサイトの培地は 1%HMGS 添加 Medium254, 正常ヒト表皮細胞の培地は HuMedia-KG2 であった。いずれの細胞も

37°C, 5% CO₂ 条件下で培養した。細胞を継代する際は, 2.5 g/l-Trypsin/ 1 mmol/l-EDTA Solution を用いて細胞をフラスコから剥離した。剥離した細胞を培地とともにピペットで遠心管に移し, 遠心分離 (4°C, 1,000~1,400 rpm, 5 分) で細胞を回収し, 再び試験培地に細胞を懸濁し, 細胞懸濁液として使用した。植物発酵液 SW をそれぞれ 0.00064%, 0.0032%, 0.08%, 0.4%, 2% および 10% (w/v) となるように試験培地に溶解・攪拌した後, 遠心分離 (12,000 rpm, 3 分) にて不溶性物質を除去し, 上清を濾過滅菌したものを実験に用いた。

各細胞を 1.0×10^4 cells/0.1 mL/well となるように 96 ウェルプレートに播種し, CO₂ インキュベーター (37°C, 5% CO₂) で 1 日間培養後に各ウェルから培養上清を除去した後, 調整した植物発酵液 SW を添加した各種培地に置換し, さらに 72 時間培養した。培養終了後, 各ウェルから培養上清を除去し, 100 μL の生細胞数測定試薬 SF を含む培地に交換し, 30 分後と 90 分後のウェル上清の吸光度 (測定波長 450 nm, 参照波長 660 nm) をプレートリーダーで測定し, 両値から 1 時間当たりの吸光度変化量を算出し生細胞数とした。試行回数は, 正常ヒト線維芽細胞が 5 回, 正常ヒトメラノサイトが 3 回, 正常ヒト表皮細胞が 4 回とした。

2. メラニン産生抑制試験

正常ヒトメラノサイトは 1% HMGS 添加 Medium 254 培地 (以下, 試験培地と称する) を用いて 75 cm² フラスコに起眠し, CO₂ インキュベーター (37°C, 5% CO₂) で培養した。培地交換は 1 日おきに行い, 細胞を継代する際は 0.05% トリプシン / EDTA 溶液を用いて細胞をフラスコから剥離した。80% コンフルエントに到達した時点で細胞を回収し, 試験に用いた。

植物発酵液 SW の濃度は 0.5%, 1% および 2% (w/v) とした。また, 一般的に美白効果があるといわれているアスコルビン酸 (0.08 mM), コウジ酸 (0.16% (w/v)), アルブチン (0.8% (w/v)), L- システイン (0.8% (w/v)) においても試験を行った。

細胞は, 4.5×10^4 cells/0.5 mL/well となるよう培地で調製し, 24 ウェルプレートに播種した。CO₂ インキュベーター内 (37°C, 5% CO₂) で 1 日間培養後, 被験物質添加試験培地, 溶媒添加試験培地, 陽性

対照 (400 μ M PTU) 添加試験培地に置換した。その後 3 日間培養し、wst-8 法で生細胞数測定を行い、相対生細胞数を求めた。次に、0.05% Trypsin-EDTA で細胞を剥離して回収し、120 μ L の 1N NaOH に細胞を懸濁した後、80°C で 5 分間インキュベートしてメラニン抽出を行った。メラニン抽出液およびメラニンスタンダード溶液 100 μ L を 96 ウェルプレートに移した後、吸光度 (405 nm) をプレートリーダーで測定し、検量線を作成してメラニン濃度を算出し、相対生細胞数で割ることで、単位細胞数あたりのメラニン生産量を算出した。試行回数は 5 回とした。

3. チロシナーゼ抑制試験

植物発酵液 SW を 50% となるように 0.1 M リン酸 buffer pH6.8 に溶解し、濾過滅菌後にストック溶液として使用した。コウジ酸、アルブチン、アスコルビン酸、NAC は 100 mM となるように 0.1 M リン酸 buffer pH6.8 に溶解しストック溶液として使用した。PTU は 100 mM となるようにエタノールに溶解しストック溶液として使用した。

予備検討および本試験では 96 ウェルプレートに 40 μ L の各試験濃度の被験物質と 120 μ L の 5 mM L-DOPA (0.1 M リン酸 buffer pH6.8 に溶解) を加えて混和し、さらに 40 μ L のマッシュルーム由来チロシナーゼ (25 U/mL 0.1M リン酸 buffer pH6.8 に溶解) を添加後、混和した。37°C で 30 分間反応させた後、dopachrome 生産量を 490 nm の吸光度で測定した。陽性対照としてコウジ酸、アスコルビン酸、アルブチン、PTU、NAC (いずれも 1 mM) を使用し、陰性対照としてチロシナーゼ未添加反応区を用いた。陰性対照として各被験物質添加時の溶媒対照を使用した。試行回数は 5 回とした。

4. 線維芽細胞賦活試験

正常ヒト線維芽細胞は DMEM, 10% FBS, 1% Penicillin-Streptomycin Mixed Solution (以下、基本培地と称する) を用いて 75 cm² フラスコに起眠し、CO₂ インキュベーター (37°C, 5% CO₂) で必要細胞数に達するまで培養した。培養後、細胞を Trypsin-EDTA を用いて剥離し、細胞数を測定した後に試験に使用した。試験培地は、DMEM, 1%FBS, 1% Penicillin-Streptomycin Mixed Solution を用いた。

植物発酵液 SW を 10% (w/v 100 mg/mL) となるように試験培地に溶解・攪拌した後、遠心分離 (12,000 rpm, 3 分) にて不溶性物質を除去し、上清を濾過滅菌したものを実験に用いた。

ミトコンドリア量およびミトコンドリア活性測定試験、抗老化試験では、細胞を 1×10^4 cells/0.1 mL/well となるよう基本培地で調製し、96 ウェルプレートに播種した。CO₂ インキュベーター内 (5% CO₂, 37°C) で 1 日間培養後、被験物質を添加した試験培地に置換した。陰性対象として無添加試験培地、参考物質として 200 μ M アスコルビン酸、1 mM メチルセリンおよび 25 μ M レスベラトロールを用いた。細胞は 7 日間培養し各測定に用いた。培養終了後に培養上清を除去した後、PBS で 2 回細胞を洗浄、1,000 倍希釈した Bafilomycin A1 を含む試験培地 (100 μ L/well) を添加し、60 分間、37°C にて培養した。その後、SPiDER- β Gal working solution (1,000 倍希釈)、5 μ g/mL Hoechst 33342, 500 nM MitoTracker Red CM-H2Xros を含む試験培地に置換 (100 μ L/well), 30 分間、CO₂ インキュベーター内 (5% CO₂, 37°C) で反応後に各ウェルから染色液を除去、PBS で 2 回洗浄した後、新たに試験培地を添加し、マイクロプレートリーダーにて各ウェルの蛍光強度値を測定した。測定波長は、Hoechst 33342 (細胞数) : 340 nm (励起波長) / 461 nm (蛍光波長) ; MitoTracker Red CM-H2Xros (ミトコンドリア) : 579 nm (励起波長) / 599 nm (蛍光波長) ; SPiDER- β Gal (老化細胞) : 520 nm (励起波長) / 550 nm (蛍光波長) であった。ヘキスト染色での蛍光強度により総細胞数を算出、MitoTracker Red CM-H2Xros および SPiDER- β Gal 染色の蛍光強度をヘキスト値で平均化し各相対蛍光強度を算出した。さらにミトコンドリア活性を測定するために 0.5 mg/mL MTT を含む培地に置換 (100 μ L/well) し 4 時間 37°C にて反応させた。反応後に各ウェルに 100 μ L の 0.01 M HCl 10%SDS を添加、室温にて 24 時間反応させ、MTT のホルマゾン溶解させた。その後、プレートリーダーにて吸光度 (測定波長 550 nm, 参照波長 660 nm) を測定した。試行回数は 6 回とした。

I 型コラーゲン産生試験では、細胞を 1.2×10^4 cells/0.3 mL/well となるよう基本培地で調製し 48 ウェルプレートに播種した。CO₂ インキュベーター内 (5% CO₂, 37°C) で 1 日間培養後、被験物質を

含む専用培地に置換した。陰性対照として無添加試験培地、参考物質として 200 μ M アスコルビン酸、1 mM メチルセリンおよび 25 μ M レスベラトロールを用いた。その後、3 日間培養し、培養上清を回収して測定まで -80°C で保存した。培養上清中のコラーゲン濃度はヒトコラーゲンタイプ 1 ELISA kit を用いた。キット付属のプロトコールに従って培養上清中のコラーゲン濃度をそれぞれスタンダードの吸光度から検量線を作成し測定した。試行回数は 6 回とした。

5. 表皮細胞試験

正常ヒト表皮細胞は HuMedia-KG2（以下、試験培地と称する）を用いて 75 cm^2 フラスコに起眠し、 CO_2 インキュベーター (37°C , 5% CO_2) で必要細胞数に達するまで培養した。細胞の継代には Trypsin-EDTA を用いて細胞をフラスコから剥離し、試験培地でトリプシンを中和後に遠心分離で細胞を回収し、再び試験培地に細胞を再懸濁し細胞懸濁液として使用した。

植物発酵液 SW を 10% (100 mg/mL) となるように試験培地に溶解・攪拌した後、遠心分離 (12,000 rpm, 3 分) にて不溶性物質を除去し、上清を濾過滅菌したものを実験に用いた。

ストレス保護作用の検証では、細胞を 2.5×10^4 cells/0.1 mL/well で、96 ウェルプレートに播種し、 CO_2 インキュベーター内 (37°C , 5% CO_2) で 24 時間培養後、1.2 mM 塩化カルシウムを含む試験培地に置換し、再び 6 日間培養し表皮細胞を角化細胞へと分化誘導処理した。乾燥ストレス試験では、被験物質を含む試験培地に交換して 1 日間培養後、培養上清を除去し、細胞を乾燥状態に曝した (CO_2 インキュベーター内, 2.5 時間)。その後、被験物質を含む試験培地を添加し、再び、 CO_2 インキュベーター内 (37°C , 5% CO_2) で 24 時間培養した。酸化ストレス試験では、被験物質を含む試験培地に交換して 1 日間培養後、培養上清を除去し、20 mM 過酸化水素を含む試験培地に置換し 1 時間処理した。その後、被験物質を含む試験培地を添加し、再び、 CO_2 インキュベーター内 (37°C , 5% CO_2) で 24 時間培養した。紫外線ストレス試験では、被験物質を含む試験培地に交換して 1 日間培養後、プレートに UVB を照射 (1,500 mW/cm², 4 分間) した。

その後、再び CO_2 インキュベーター内 (37°C , 5% CO_2) で 24 時間培養した。いずれの試験も細胞の増殖性は WST-8 法で測定した。また、各ストレス試験では、参考物質として 100 μ M アスコルビン酸、0.5 mg/mL ヒアルロン酸および 50 μ M NAC 添加した試験区も準備した。

細胞を 5×10^4 cells/0.5 mL/well で 48 ウェルプレートの各ウェルに播種し、 CO_2 インキュベーター内 (37°C , 5% CO_2) で 1 日間培養後、1% 被験物質を含む試験培地に交換し、24 時間培養した。培養後、Fast Lane Cell cDNA Kit を用いてトータル RNA の回収および cDNA の逆転写を行った。SYBER Premix Ex Taq を用いたりアルタイム RT-PCR 法により、FGF-2 および EGF 遺伝子の発現量を測定し、内部標準には GAPDH 遺伝子を用いた。各遺伝子のプライマー配列は FGF-2: forward primer 5'-agaagagcgaccctcacatca-3', reverse primer 5'-cggttagcacactcctttg-3', EGF: 5'-aactgtgtgttgctacatcgggg-3', reverse primer 5'-gatgacctctgctgctgccgtgg-3', GAPDH: 5'-catccctgcctctactggcgtgcc-3', reverse primer 5'-ccaggatgcccttgagggggccctc-3' であった。陰性対照として被験物質を含まない培地に置換した試験区を用い、試行回数は 4 回とした。

6. 統計解析

各値にて、平均値および標準誤差を算出した。また、比較試験区間（無添加区または対照区と植物発酵液 SW 添加区間）では有意差検定を実施した。用いた検定は Student *t* 検定であり、 $P < 0.05$ を有意差ありと判断した。

結果

1. 細胞毒性試験

正常ヒトメラノサイトは、最高濃度の 2% においても細胞毒性を示さなかった（データ表示なし）。正常ヒト線維芽細胞および正常ヒト表皮細胞は、最高濃度の 10% において顕著な細胞毒性を示したものの、2% 以下では細胞毒性を示さなかった（データ表示なし）。

2. メラニン産生抑制試験

事前に濃度検討試験を実施し、植物発酵液 SW 原液の濃度は 0.5, 1, 2% (w/v%) とした。2% 濃度

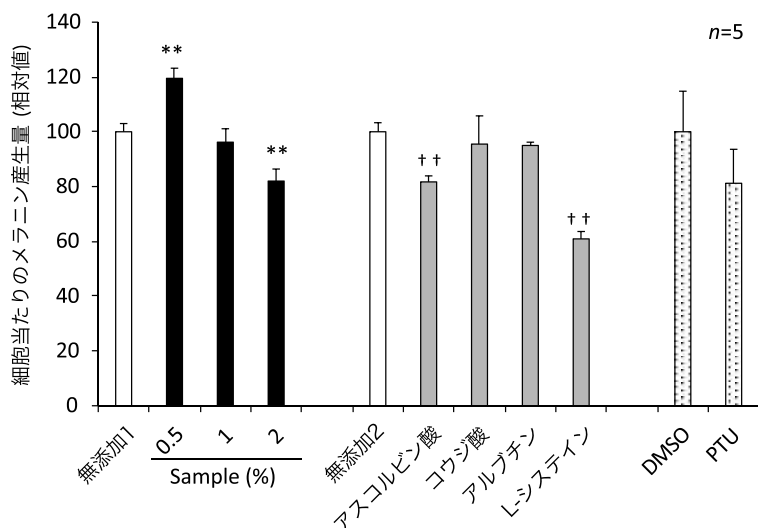


図1 メラノサイトにおける細胞当たりのメラニン産生量

平均値 ± 標準誤差, ** $P < 0.01$ (vs. 無添加1), †† $P < 0.01$ (vs. 無添加2) 無添加は植物発酵液 SW 無添加区, Sample は植物発酵液 SW 添加区を表す。

アスコルビン酸, 0.08 mM; コウジ酸, 0.16% (w/v); アルブチン, 0.8% (w/v); L-システイン, 0.8% (w/v); PTU, 400 μ M (DMSO を溶媒として用いた)

区において, 細胞当たりのメラニン産生量は有意に低下した ($P < 0.01$; 図1)。また L-システイン添加区においても細胞当たりのメラニン産生量は顕著に低下していた ($P < 0.01$; 図1)。陽性対照の PTU 添加区でもメラニン産生量は低下したことから試験系に問題はなく, 植物発酵液 SW 添加区で確認されたメラニン産生量の低下は植物発酵液 SW による影響と考えられた。

3. チロシナーゼ抑制試験

コウジ酸, PTU, NAC 添加区においてチロシナーゼ活性が顕著に阻害された ($P < 0.01$; 図2)。植物発酵液 SW に関しては, 1.25% 以上の濃度区でチロシナーゼ活性が有意に阻害された ($P < 0.01$; 図2)。

4. 線維芽細胞賦活試験

線維芽細胞において, レスベラトロール添加区を除き, 生細胞数に変化が確認された添加区はなかった (図3A)。

ミトコンドリア賦活性に関しては, 陽性対照であるアスコルビン酸, メチルセリン, レスベラトロール添加区ではミトコンドリア賦活性は認められなかった (図3B, 図3C)。植物発酵液 SW では1% 濃度区以下でミトコンドリア量の低下が確認されたものの ($P < 0.05$; 図3B), 0.5% 濃度区以下ではミトコンドリア活性の有意

な上昇が確認された ($P < 0.01$; 図3C)。

β -ガラクトシダーゼ染色に関しては, 陽性対照であるレスベラトロール添加区では吸光度の有意な低下が認められた ($P < 0.01$; 図3D)。植物発酵液 SW では0.25% 濃度区以上において吸光度の有意な低下が認められ, 1% 濃度区においてはレスベラトロールと同等の抗老化作用が認められた ($P < 0.01$; 図3D)。

線維芽細胞から産生分泌される I 型コラーゲンに

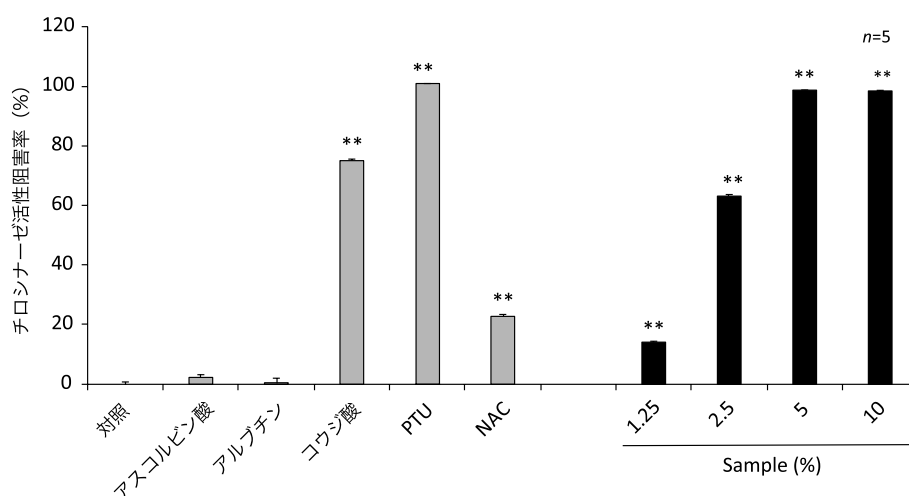


図2 チロシナーゼ活性阻害率

平均値 ± 標準誤差, ** $P < 0.01$ (vs. 対照)

対照は植物発酵液 SW 無添加区, Sample は植物発酵液 SW 添加区を表す。

アスコルビン酸, 1 mM; アルブチン, 1 mM; コウジ酸, 1 mM; PTU, 1 mM; NAC, 1 mM

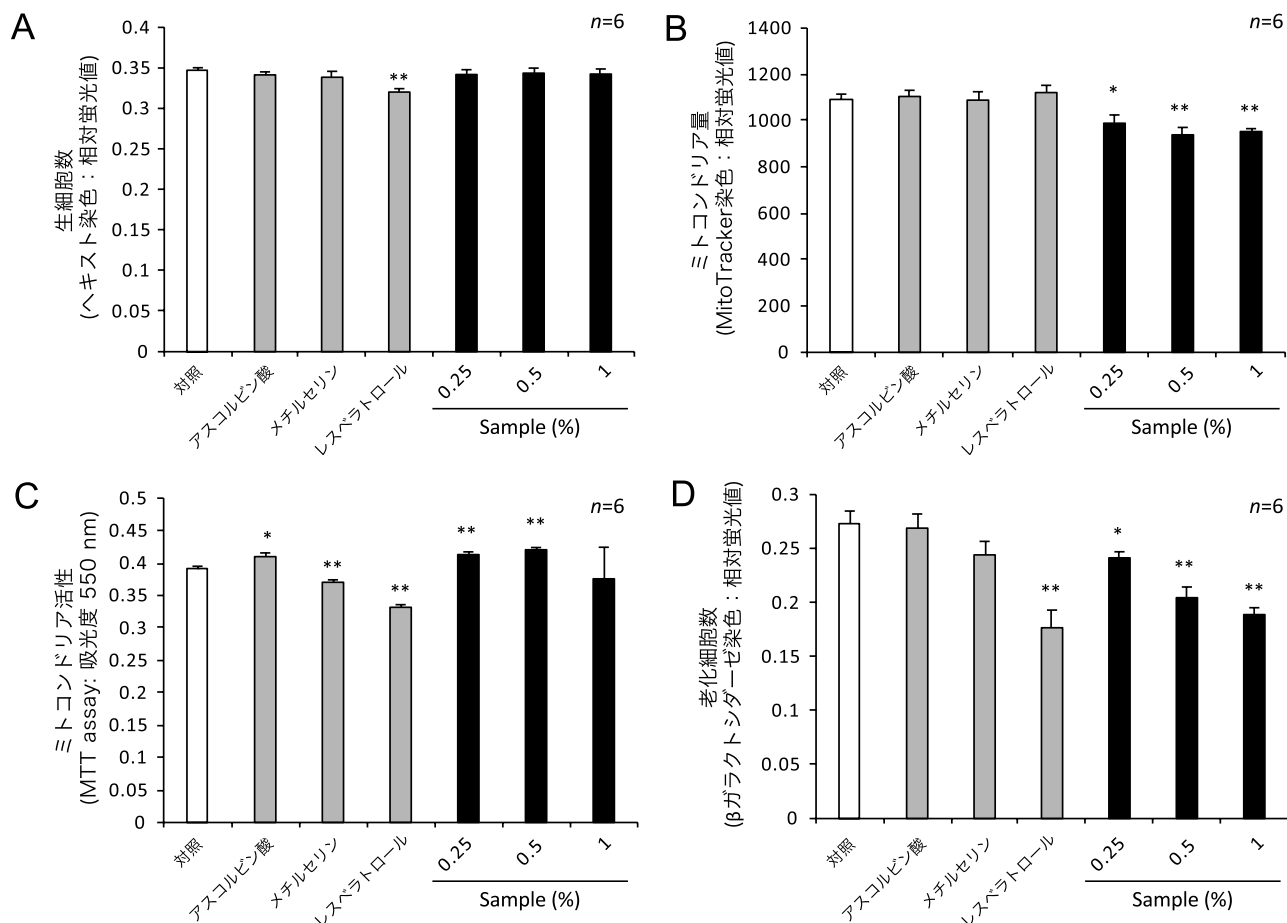


図3 線維芽細胞賦活効果

平均値 $\pm$ 標準誤差, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (vs. 対照)

A) 生細胞数, B) ミトコンドリア量, C) ミトコンドリア活性, D) 老化細胞数
 対照は植物発酵液 SW 無添加区, Sample は植物発酵液 SW 添加区を表す。
 アスコルビン酸, 200 μ M; メチルセリン, 1 mM; レスベラトロール, 25 μ M

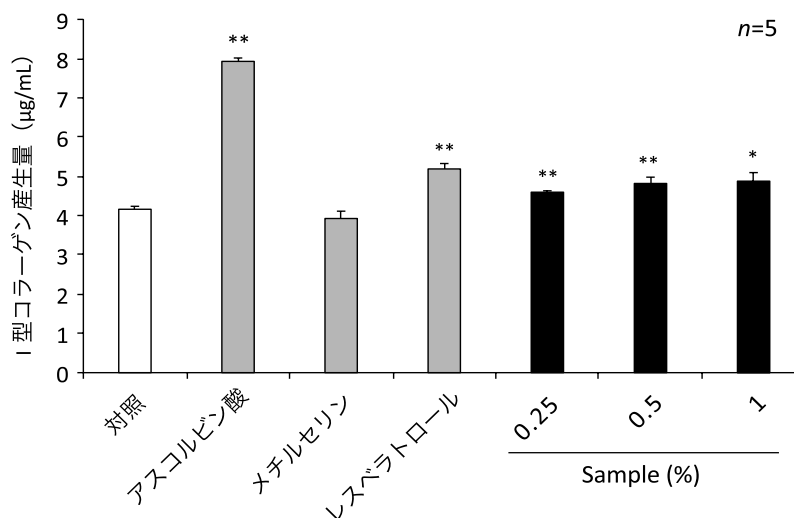
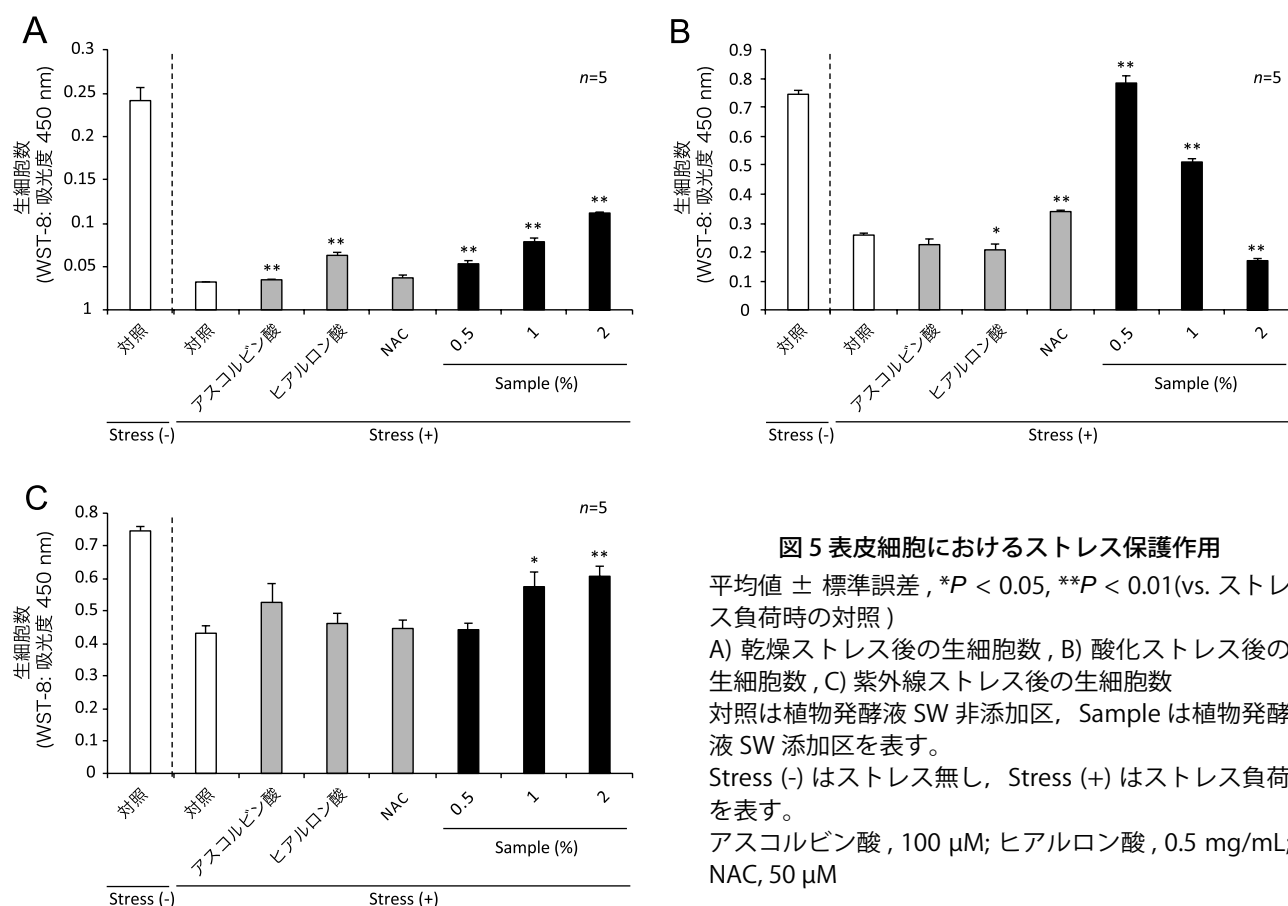


図4 線維芽細胞におけるI型コラーゲン産生量

平均値 $\pm$ 標準誤差, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (vs. 対照)

対照は植物発酵液 SW 無添加区, Sample は植物発酵液 SW 添加区を表す。
 アスコルビン酸, 200 μ M; メチルセリン, 1 mM; レスベラトロール, 25 μ M



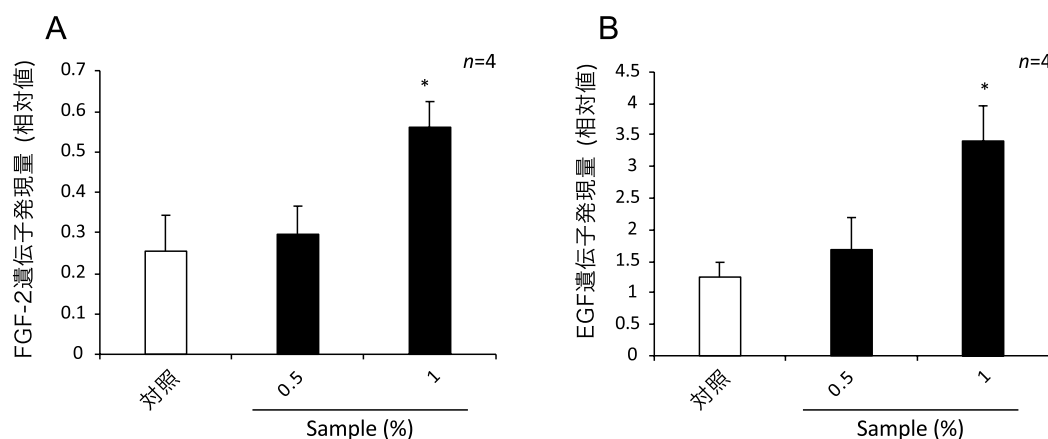
およぼす植物発酵液 SW の影響を検証したところ、0.25%, 0.5%, 1% 濃度区において I 型コラーゲン量の有意な増加が認められた ($P < 0.05$; 図 4)。

5. 表皮細胞試験

5-1. ストレス保護試験

表皮角化細胞を用いたストレス保護試験では、乾燥ストレス下において植物発酵液 SW 処理区で濃度

依存的に有意に保護性を示し、2% 濃度区においては陽性対照であるヒアルロン酸添加区より保護性が強かった ($P < 0.01$; 図 5A)。酸化ストレス下においては、植物発酵液 SW 処理区で低濃度ほど有意に保護性を示し、0.5% および 1% 濃度区においては陽性対照である NAC 添加区より強い保護性を示した ($P < 0.01$; 図 5B)。また、紫外線ストレス下においては、植物発酵液 SW 処理区で濃度依存的に保護性を示



し、1% および 2% 濃度区においては有意な保護性が確認された ($P < 0.05$; 図 5C)。

5-2. 成長因子発現量測定

線維芽細胞成長因子である FGF-2 の遺伝子発現は、1% 濃度区においてのみ有意な発現促進が認められた (図 6A)。表皮細胞成長因子である EGF の遺伝子発現は、1% 濃度区で有意な発現上昇が認められた (図 6B)。

考察

本研究では美白効果の評価としてメラニン産生抑制試験とチロシナーゼ抑制試験を実施した。メラニン産生抑制試験では、植物発酵液 SW がメラノサイトにおけるメラニン産生を抑制した。またチロシナーゼ抑制試験では、高濃度区において有意な阻害作用が認められた。植物発酵液 SW は HORAC 法による測定において没食子酸相当量が計算されており、没食子酸の存在が確認されている⁹⁾。没食子酸を含むテアフラビンやカテキン、ヘスペリジン、ケルセチンなどのポリフェノールは、メラニン合成の阻害およびメラニン合成に関与するチロシナーゼの活性阻害や発現抑制作用を示すことが報告されている¹⁰⁻¹³⁾。したがって、植物発酵液 SW に含まれるポリフェノールがメラノサイトにおけるメラニン合成とチロシナーゼ活性を阻害したと考えられる。

肌健全効果の評価として、線維芽細胞賦活試験と表皮細胞試験を実施した。線維芽細胞においては、植物発酵液 SW の添加により若干のミトコンドリア量の低下が確認された。しかし、ミトコンドリア活性の亢進や抗老化作用が確認され、生細胞数に影響は認められなかったことから、植物発酵液 SW 添加区のミトコンドリア量に確認された有意差は細胞機能に影響を与えるものではないと考えた。ミトコンドリアは細胞代謝に関与しており¹⁴⁾、ヒト皮膚由来線維芽細胞を用いた先行研究より、老化による代謝低下はミトコンドリアの機能低下を介した酸化ストレスが原因であることが示唆されている¹⁵⁾。本試験の結果より、植物発酵液 SW は線維芽細胞におけるミトコンドリア機能の向上が確認されたほか、先行研究により抗酸化作用を示すことが明らかとなっていることから⁹⁾、植物発酵液 SW はミトコンドリアの賦活化作用および抗酸化作用によっ

て細胞の代謝を向上させ、抗老化作用を示したと考えられる。

また、本試験では植物発酵液 SW の添加によって線維芽細胞から産生・分泌される I 型コラーゲンの産生量が増加した。フラバノン、フラボン、およびフラボノールがヒト皮膚線維芽細胞におけるコラーゲン産生に及ぼす影響を網羅的に解析した先行研究では、ワカメなどに含まれるモリン、柑橘類やアスパラガスなどに含まれるルチン、ほとんどの果物に含まれるクリシンが、コラーゲン産生量を増加させたと報告されている¹⁶⁾。植物発酵液 SW はこれらのポリフェノールを多く含む食品を原料としていることから、コラーゲン産生促進効果を示したと考えられる。I 型コラーゲンは皮膚の真皮層に多く存在し、肌のハリやその他の皮膚機能に関与すると考えられている¹⁷⁾。ヒトを対象にした先行研究では、コラーゲンの摂取によって皮膚水分量や粘弾性が増加したと報告されている^{18, 19)}。植物発酵液 SW は線維芽細胞のコラーゲン量を増加させたことから、ヒトに摂取させた場合は肌の粘弾性を高める可能性が示された。

表皮細胞試験では、乾燥ストレスおよび紫外線ストレス負荷に対しては植物発酵液 SW の濃度が高まるとともに保護作用の強度が増すことが確認されたが、酸化ストレスに対しては他の反応系とは異なり、濃度が高まるとともに保護作用の減弱が確認された。表皮細胞の保湿機能に大きく貢献しているのは天然保湿因子と呼ばれる水溶性低分子であり、遊離アミノ酸とその誘導体、有機酸、ミネラル塩類で構成されている²⁰⁾。遊離アミノ酸の大半はフィラグリンというタンパク質の加水分解に由来する²⁰⁾。ポリフェノールの一種であるエピガロカテキンガレートは、ヒト表皮角化細胞を用いた試験において、フィラグリンの mRNA 発現量を増加させたと報告されている²¹⁾。エピガロカテキンガレートは没食子酸構造を含むが、植物発酵液 SW にも没食子酸の存在が確認されていることから⁹⁾、植物発酵液 SW もフィラグリン量を増加させた可能性があった。紫外線照射に伴い細胞内で発生した ROS は、細胞の DNA や脂質、タンパク質を傷害するが²²⁾、皮膚にはこれらのダメージを緩和するために各種の抗酸化システムが構築されている。内因性の抗酸化物質ではビタミン E、コエンザイム Q₁₀、アスコルビン酸、

カロチノイドなどが挙げられ²³⁾、抗酸化酵素としてはスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼなどがある²⁴⁾。

ポリフェノールの抗酸化力はビタミン E や C の数十倍あると言われており²⁴⁾、植物発酵液 SW もポリフェノールを含有することから、抗酸化作用により細胞のダメージ緩和に寄与したと考えられる。また植物発酵液 SW は、*in vitro* の先行研究において SOD 様活性、カタラーゼ様活性、フリーラジカル消去能、ヒドロキシラジカル消去能を示すことが確認されている⁹⁾。さらに、線維芽細胞を用いた試験では、植物発酵液 SW が過酸化水素暴露による細胞数の減少を抑制したと報告されている²⁵⁾。したがって、植物発酵液 SW は保湿作用や抗酸化作用により、乾燥ストレス、酸化ストレス、紫外線ストレスに対する保護作用を示したと考えられるが、酸化ストレス反応系においては他の反応系とは異なる経路によって保護作用を示したと推察される。

また植物発酵液 SW は、成長因子である EGF、FGF-2 の遺伝子発現を促進した。皮膚組織に存在するマクロファージは、外敵の侵入防止や外敵によりダメージを受けた組織の修復のために成長因子を分泌することが知られている²⁶⁾。マウスを用いた先行研究より、クロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジンなどを含む果実由来のポリフェノール画分が創傷部の皮膚においてマクロファージ活性を低下させ、抗炎症作用および線維形成促進作用を示したと報告されている²⁷⁾。また、植物発酵液 SW の原料である春菊に含まれる α -ピネンを主成分とする植物抽出物は、マウスにおいて創傷浸出液中の FGF-2 濃度を有意に上昇させたことが確認されてい

る²⁸⁾。さらに、サケ皮由来のコラーゲンペプチドは、マウスの創傷部の皮膚における FGF-2 発現量を有意に上昇させたと報告されている²⁹⁾。したがって、植物由来の成分と低分子コラーゲンが複合的に成長因子の遺伝子発現を促進したと考えられる。FGF-2 は上皮細胞の遊走および増殖を促進することから²⁹⁾、植物発酵液 SW は成長因子の発現促進を介してストレスなどによる組織修復に有用である可能性がある。

また、メラニンの沈着や維持にはエンドセリン(ET) -1 が関与すると言われ³⁰⁾、没食子酸構造を含むエピガロカテキンガレートやレスベラトロール、ケルセチンなどは ET-1 の発現を低下させることが報告されている^{31,32)}。没食子酸の存在が確認されている⁹⁾ 植物発酵液 SW においても本試験でメラニン量の減少が認められたことから、ET-1 の発現を低下させることが予測される。今後の試験で ET-1 の発現量を測定することも興味深い課題である。

結論

本研究では、植物発酵液 SW (低分子コラーゲン含有) の肌に対する機能性に着目し、細胞試験において美白効果および肌健全効果を検証した。その結果、メラニン産生やチロシナーゼ活性を抑制することが確認され、美白作用が示唆された。また、ミトコンドリア賦活作用や老化抑制作用により肌・真皮層の健全化をもたらし、I 型コラーゲンの産生を促進することで肌の粘弾性を促進させる可能性が考えられた。加えて、成長因子の発現を促進することで、皮膚におけるストレス防御および修復に寄与する可能性が示された。

利益相反

本藤和彦 (八雲香産株式会社 代表取締役)、鈴木直子 (株式会社オルトメディコ 取締役、八雲香産株式会社から執筆費用を受領)、山下慎一郎 (株式会社オルトメディコ 社員、八雲香産株式会社から執筆費用を受領)、吉田雄介 { 株式会社エーセル 取締役、八雲香産株式会社から研究費用を受領、植物発酵液 SW (低分子コラーゲン含有) の受領 }

参考文献

- Howell E.: Introduction to Enzyme Nutrition. In: Enzyme Nutrition: The Food Enzyme Concept. New York: Avery Publishing Group; 1-14 p. 1985.
- 吉城由美子：新規微弱発光系による活性酸素消去能に関する研究. 日本農芸化学会誌. **73**(12): 1283-1288. 1999.
- 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介：ミトコンドリアおよび抗酸化作用を介した植物発酵ペースト AO の細胞学的効果. 薬理と治療. **45**(7): 1141-1152. 2017.
- 本藤和彦, 山下慎一郎, 鈴木直子, 和泉達也：植物発酵ペースト AO の摂取がヒトの抗酸化能および肌の状態に与える影響—非盲検試験—. 薬理と治療. **45**(7): 1153-1164. 2017.
- Georgieva E, Ivanova D, Zhelev Z, *et al.*: Mitochondrial dysfunction and redox imbalance as a diagnostic marker of “Free radical diseases.” *Anticancer Res.* **37**(10): 5373-5381. 2017.
- Denat L, Kadekaro AL, Marrot L, *et al.*: Melanocytes as instigators and victims of oxidative stress. *J Invest Dermatol.* **134**(6): 1512-1518. 2014.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB.: Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med.* **49**(11): 1603-1616. 2010.
- Skoczyńska A, Budzisz E, Trznadel-Grodzka E, Rotsztein H.: Melanin and lipofuscin as hallmarks of skin aging. *Adv Dermatology Allergol.* **34**(2): 97-103. 2017.
- 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介：植物発酵液 SW の抗酸化作用. 薬理と治療. **47**(5): 733-738. 2019.
- Yamaoka Y, Ohguchi K, Itoh T, *et al.*: Effects of Theaflavins on melanin biosynthesis in mouse B16 melanoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73**(6): 1429-1431. 2009.
- Sato K, Toriyama M.: Depigmenting effect of catechins. *Molecules.* **14**(11): 4425-4432. 2009.
- Lee HJ, Lee WJ, Chang SE, Lee G.: Hesperidin, a popular antioxidant inhibits melanogenesis via Erk1 / 2 Mediated MITF degradation. *Int J Mol Sci.* **16**(8): 18384-18395. 2015.
- Fujii T, Saito M.: Inhibitory effect of quercetin isolated from rose hip (*Rosa canina* L.) against melanogenesis by mouse melanoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73**(9): 1989-1993. 2009.
- Wanet A, Arnould T, Najimi M, Renard P.: Connecting mitochondria, metabolism, and stem cell fate. *Stem Cells Dev.* **24**(17): 1957-1971. 2015.
- Kozielec R, Greussing R, Maier AB, *et al.*: Functional interplay between mitochondrial and proteasome activity in skin aging. *J Invest Dermatol.* **131**(3): 594-603. 2011.
- Stipcevic T, Piljac J, Vanden Berghe D. Effect of different flavonoids on collagen synthesis in human fibroblasts. *Plant Foods Hum Nutr.* **61**(1): 27-32. 2006.
- Quan T, Fisher GJ.: Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: A Mini-Review. *Gerontology.* **61**(5): 427-434. 2015.
- 大原浩樹, 伊藤恭子, 飯田博之, 松本均：コラーゲンペプチド経口摂取による皮膚角層水分量の改善効果. 日本食品科学工学会誌. **56**(3): 137-145. 2009.
- Matsumoto H, Ohara H, Ito K, *et al.*: Clinical effects of fish type I collagen hydrolysate on skin properties. *ITE Lett.* **7**(4): 386-390. 2006.
- 平尾哲二：皮膚の保湿メカニズム. 日本香粧品学会誌. **37**(2): 95-100. 2013.
- Kim E, Hwang K, Lee J, *et al.*: Skin protective effect of epigallocatechin gallate. *Int J Mol Sci.* **19**: 173. 2018.
- Kulms D, Zeise E, Pöppelmann B, Schwarz T.: DNA damage, death receptor activation and reactive oxygen species contribute to ultraviolet radiation-induced apoptosis in an essential and independent way. *Oncogene.* **21**: 5844-5851. 2002.
- Hata TR, Scholz TA, Pershing LK, *et al.*: Non-invasive raman spectroscopic detection of carotenoids in human skin. *J Invest Dermatol.* **115**(3): 441-448. 2000.
- 田中芳明, 石井信二, 浅桐公男ほか：酸化ストレスと抗酸化療法. 日本静脈経腸栄養学会雑誌. **31**(1): 3-12. 2016.
- 関根結夏子, 及川哲志, 松井彩ほか：植物発酵液 SW の美容効果に関する機能性の解析. In: 第 73 回日本栄養・食糧学会大会. 静岡 ; p. 243. 2019.
- 岸本三郎：皮膚創傷治癒—そのメカニズムと治療—. 日本皮膚科学会雑誌. **113**(7): 1087-1093. 2003.
- de Moura F, Justino A, Ferreira B, *et al.*: Pro-fibrogenic and anti-inflammatory potential of a polyphenol-enriched fraction from annona crassiflora in skin repair. *Planta Med.* **85**(7): 570-577. 2019.
- Haghdoust F, Baradaran Mahdavi MM, *et al.*: Pistacia atlantica resin has a dose-dependent effect on angiogenesis and skin Burn wound healing in rat. *Evidence-Based Complement Altern Med.* **2013**: 893425. 2013.
- Wang J, Xu M, Liang R, *et al.*: Oral administration of marine collagen peptides prepared from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) improves wound healing following cesarean section in rats. *Food Nutr Res.* **59**(1): 26411. 2015.
- Murase D, Hachiya A, Kikuchi-onoe M, *et al.*: Cooperation of endothelin-1 signaling with melanosomes plays a role in developing and / or maintaining human skin hyperpigmentation. *Biol Open.* **4**(10): 1213-1221. 2015.
- Reiter CEN, Kim J, Quon MJ.: Green tea polyphenol epigallocatechin gallate reduces endothelin-1 expression and secretion in vascular endothelial cells: Roles for AMP-activated protein kinase, Akt, and FOXO1. *Endocrinology.* **151**(1): 103-114. 2010.
- Nicholson SK, Tucker GA, Brameld JM.: Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proc Nutr Soc.* **67**(1): 42-47. 2008;

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、これまで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・乳製品工場の技術者にも役立つ参考書としてエヌエフアイより発刊いたしました。

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

フレイルとその予防としての栄養管理について

窪田 倭 (KUBOTA Sunao)¹

Key Words: フレイル, プレフレイル, Fried CHS 基準, タンパク質摂取量, ビタミン D

はじめに

我が国の平均寿命は、2016 年で男性は 80.98 歳、女性は 87.14 歳と報告されている¹⁾。総人口は 1 億 2,618 万人で、そのうち 65 歳以上の人口は 3,591 万人で、総人口の 28.5% を、70 歳以上の人口が 2,447 万人で 19.4% を占めており、それぞれ過去最多・最高を更新した²⁾。この傾向は今後も継続すると推定され、高齢者人口は 2042 年には、3,935 万人とピークに達するものの高齢化率は低下せず、2060 年には 38.1% に達すると推計されている³⁾。このように人口の高齢化が進む中で、自立した日常生活が送れない要支援・要介護に陥る可能性の高い高齢者の増加が危惧されている。現に介護保険制度が導入された 2000 年以降、要支援・要介護認定者数は右肩上がりに増加しており、2016 年は約 605 万人である³⁾。そのうち、75 歳以上の高齢者の認定者数は約 86% を占めている³⁾。それに伴い介護費用も増加しており、2000 年の 3.6 兆円から 2016 年には 10.4 兆円に達している⁴⁾。国民総医療費約 44 兆円の 23% を占めており、高齢者の介護にかかわる社会的負担増も懸念されている。

平均寿命の延伸により我が国は世界有数の長寿大国になったが、健康上の問題で日常生活に支障のないいわゆる健康寿命は、男性 72.14 歳、女性は 74.79 歳である¹⁾。平均寿命と比較すると、男性は 8.84 年、女性は 12.35 年の差があり、この期間に医療や介護が必要となる。人生最後の約 10 年間で要介護の寝たきりの状態にあることを意味しており、健康

寿命の延伸が我が国の重要な課題とされている。

高齢者の要支援・要介護に移行する大きな要因は、これまで脳卒中、心疾患、糖尿病などの生活習慣病であったが、最近では、高齢によるフレイル（衰弱）、ロコモティブシンドローム、さらに認知症が主な原因とされている⁵⁾。フレイルについては次項以下に詳述するが、フレイルは自立できる状態から要介護へと至る中間状態を指す。要介護に至るまでに運動機能、認知機能、生活機能、社会参加などの低下が基盤にあり、要介護者の多くがフレイルを経由する。しかし、適切な介入により自立できる健康な状態に戻りうる可能性を持っているのが、フレイルの特徴である。適切な介入は、従来の医療に見られた薬剤投与によるものが主ではなく、栄養管理、運動療法、精神・心理療法さらに口腔ケア療法など多面的な介入により、フレイルの状態から自立できる状態への移行が、可能であることが明らかになっている。そこで、本稿においてフレイルについて概説し、フレイル予防としての栄養管理について述べる。

1. フレイルについて

1-1. 定義と概念

フレイルとは、「加齢に伴う予備能力の低下のため、ストレスに対する回復力が低下し身体機能障害や健康障害を起こしやすい状態」と定義されている⁶⁾。具体的には、フレイルは健康障害に対する脆弱性が増加して、要介護状態に至る前段階として位置づけられ、自立障害や死亡を含む健康障害を招きやすい

¹ 三多摩医療生活協同組合 国分寺診療所 理事（総合診療科医）
email: kubota.sunao@advanced-tech-inst.co.jp

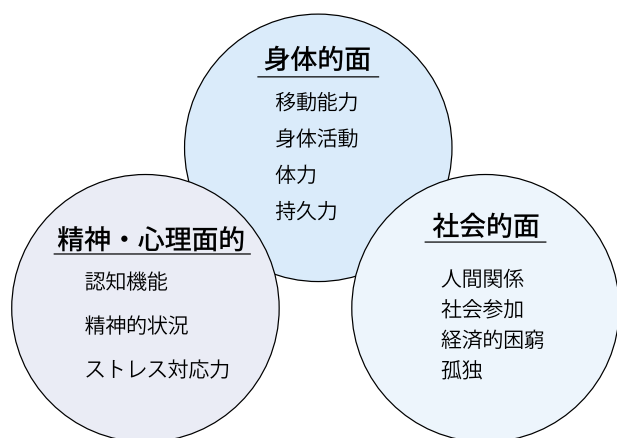


図1 フレイルの多面的・包括的概念

ハイリスク状態を意味する⁶⁾。ただ、要介護状態に至る前段階ではあるが、適切な介入により健常な状態（自立できる状態）に戻る可能性が含まれている。

フレイルは骨格筋量や筋力の低下に代表される身体的問題（身体的フレイル）に加えて、認知機能障害やうつ状態などの精神・心理的問題（精神・心理的フレイル）、および閉じこもりや経済的困窮などの社会的問題（社会的フレイル）を含む概念とされ、多面的かつ包括的にとらえる必要性が指摘されている（図1）。身体的フレイルに類似の病態として「サルコペニア」があるが、サルコペニアは「筋肉量の減少を主体とした身体機能低下を表す限定的概念」として⁷⁾、身体的フレイルの中核病態として位置づけられている。一方、フレイルは「加齢に関連する多元的な要因でもたらされる脆弱性を表す概念」と

して区別されている。

社会的フレイルについて、我が国および海外において何れも統一された定義はない。一般的に、「加齢に伴う生活環境や社会活動の変化から、社会的孤立や閉じこもりなどに対する脆弱性が増加した状態」と定義されている。

精神・心理的フレイル（認知的フレイル）の定義は、①身体的フレイルと認知機能障害（Clinical Dementia Rating(CDR)0.5と定義）が共存すること、③アルツハイマー型もしくはその他の認知症でないこと、この双方を満たす状態を指している⁶⁾。具体的には、認知的には認知症の段階に至ってはいないが、身体的にはフレイルな状態と位置づけられ、介入により認知機能、身体機能の双方が改善する見込みがある状態とされている⁶⁾。

フレイルと診断された高齢者は、日常生活機能障害をはじめとして転倒・骨折などを引き起こし、入院その後の要介護となり、死亡率も高くなることが指摘されている。従って、フレイルは高齢者の生命・機能の予後推定、および包括的医療を行う上で重要な概念である。

1-2. 診断基準（評価法）

フレイルになると身体的に顕在化する5項目、すなわち1. 体重減少（shrinking, weight loss）、2. 疲労感（exhaustion）、3. 活動性低下（low activity）、4. 筋力低下（weakness）、5. 身体機能低下（歩行速度

表1 日本版フレイル評価法
（フレイルのみかた．荒井秀典編．中外医学社．p54, 2018. より）

・ J-CHS 基準によるフレイル評価

（長寿医療研究開発費事業 25-11「フレイルの進行に関わる要因に関する研究」班）

項目	評価基準
体重減少 (shrinking)	6 か月で、2～3kg 以上の体重減少
筋力低下 (weakness)	握力：男性 <26kg 女性 <18kg
疲労感 (exhaustion)	（ここ2週間）わけもなく疲れたような感じがする
歩行速度低下 (slowness)	通常歩行速度 <1.0m/ 秒
身体活動低下 (low activity)	①軽い運動・体操をしていますか？ ②定期定期的な運動・スポーツをしていますか？ 上記の2ついずれも「していない」と回答

【該当項目数】

0 項目：健常 1～2 項目：プレフレイル 3 項目以上：フレイル

J-CHS: Fried らは、Cardiovascular Health Study の研究をもとに、フレイルの評価基準を定めた。その日本版の基準として、厚生労働省研究班によって、J-CHS 基準が提唱された。

の低下) (slowness) を抽出して、3 つ以上に該当する場合を「フレイル」、1 ～ 2 つに該当する場合を「プレフレイル」、いずれにも該当しない場合を「健常」と判定するフレイルの評価法が Fried *et al.* によって 2001 年に提唱された⁸⁾。この Fried の評価法 (Fried CHS (Cardiovascular Health Study) 基準) を参考にして日本人用の評価法が作成されている (表 1)。Fried CHS 基準は身体的フレイルに関する項目のみで、精神・心理的フレイル (認知的フレイル) や社会的

フレイルに関する項目が含まれていない。

フレイルの概念が多面的かつ包括的であることから、精神・心理的な面および社会的な面よりの評価が必要なことより、要介護のリスクが高い者のスクリーニングに用いられている「基本チェックリスト」が、我が国ではフレイルの評価法として位置づけられている (表 2)。25 の自己記入式の質問事項よりなり、その 1 ～ 3 は手段的 ADL (日常生活活動)、4, 5 は社会的 ADL、6 ～ 10 は運動・転倒、11, 12 は栄養、

表 2 基本チェックリスト
(フレイルのみかた. 荒井秀典編. 中外医学社. p55, 2018. より)

基本チェックリスト

NO	質問項目	回答	
1	バスや電車で一人で外出していますか	0. はい	1. いいえ
2	日用品の買い物をしていますか	0. はい	1. いいえ
3	預貯金の出し入れをしていますか	0. はい	1. いいえ
4	友人の家を訪ねていますか	0. はい	1. いいえ
5	家族や友人の相談にのっていますか	0. はい	1. いいえ
6	階段を手すりや壁をつたわずに上っていますか	0. はい	1. いいえ
7	椅子に座った状態から何もつかまらずに立ち上っていますか	0. はい	1. いいえ
8	15 分くらい続けて歩いていますか	0. はい	1. いいえ
9	この 1 年間に転んだことがありますか	1. はい	0. いいえ
10	転倒に対する不安は大きいですか	1. はい	0. いいえ
11	6 か月で 2～3kg 以上の体重減少がありましたか	1. はい	0. いいえ
12	身長 cm・体重 kg (BMI) 18.5 未満の場合に該当 (1) とする		
13	半年前に比べて固いものが食べにくくなりましたか	1. はい	0. いいえ
14	お茶や汁物などでむせることがありますか	1. はい	0. いいえ
15	口の渇きが気になりますか	1. はい	0. いいえ
16	週に 1 回以上は外出していますか	0. はい	1. いいえ
17	去年と比べて外出の回数が減っていますか	1. はい	0. いいえ
18	周りの人から「いつも同じことを聞く」などのもの忘れがあるとされますか	1. はい	0. いいえ
19	自分で電話番号を調べて電話をかけることをしていますか	0. はい	1. いいえ
20	今日が何月何日かわからない時がありますか	1. はい	0. いいえ
21	(ここ 2 週間で) 毎日の生活に充実感がない	1. はい	0. いいえ
22	(ここ 2 週間で) これまで楽しんでやれていたことが楽しめなくなった	1. はい	0. いいえ
23	(ここ 2 週間で) 以前は楽にできていたことが今ではおっくうに感じられる	1. はい	0. いいえ
24	(ここ 2 週間で) 自分が役に立つ人間だとは思えない	1. はい	0. いいえ
25	(ここ 2 週間で) わけもなく疲れたような感じがする	1. はい	0. いいえ

【該当項目数】

0～3 個：フレイルなし (健常)

4～7 個：プレフレイル

8 項目以上：フレイル

13～15は口腔機能, 16, 17は閉じこもり, 18～20は認知機能, 21～25はうつに関する質問事項より構成されている。8項目以上は「フレイル」、4～7項目を「プレフレイル」、0～3項目では「健常」に該当するとされている(表2)。この「基本チェックリスト」を用いて、日本人高齢者の3年間の追跡調査結果において、フレイルのものでは新規要介護認定と総死亡リスクが、フレイルなしのものより優位に高いことが報告され、その妥当性が証明されている⁹⁾。

社会的フレイルについては、我が国や海外において統一された評価法(診断基準)はなく、研究者が独自の定義、評価法を設定し用いている。Makizako *et al.* は、「独居」、「外出頻度の低下」、「友人を訪問しない」、「家族や友人の役に立っているという自己有用感がない」、「毎日の会話をしていない」、5項目のうち2項目以上の該当を社会的フレイル、1項目の該当を社会的プレフレイルと判定している¹⁰⁾。海外においては、Teo *et al.* の7個の項目からなる評価法は我が国として受け取りやすい評価法である¹¹⁾。すなわち「独居」、「教育歴」、「交友関係」、「連絡状況」、「社会活動」、「経済状況」、「居住形態」のうち2項目以上に該当すれば高度社会的フレイル、1項目に該当すれば軽度社会的フレイルと定義している¹¹⁾。

認知的フレイルの評価法は、定義のCDR 0.5以外に軽度認知障害(MCI)テストあるいはMini-Mental State Examination (MMSE)などが用いられている。

1-3. フレイルの頻度

フレイルの評価法は欧米ではFried CHS基準、我が国では日本版CHS基準が頻用されているので、以下に記すフレイルの頻度は身体的フレイルを表している。

我が国における地域在住高齢者(65歳以上)のフレイルの頻度は、7.9%であり、年齢別において65～69歳は1.9%、70～74歳は3.8%、75～79歳は10.0%、80～84歳は20.4%、そして、85歳以上では35.1%となり、75歳以上になると急に増加する¹²⁾。女性は8.1%と男性の7.6%に比して高い傾向にある。またプレフレイル(フレイル予備軍)は48.1%であることが報告されている¹²⁾。施設入居者

を対象とした系統的レビューでは、52.3%がフレイル、プレフレイルは40.2%である¹³⁾。

海外での65歳以上の地域高齢者を対象とした系統的レビューによると、フレイルの頻度は9.9%、プレフレイルの頻度は44.2%である¹⁴⁾。先進国での地域在住高齢者の身体的フレイルの頻度は10%弱であり、施設入居者では約50%と高くなる。

社会的フレイルの我が国の頻度は10.2%で、社会的プレフレイルは24.9%とMakizako *et al.* は報告している¹⁰⁾。海外では、前述したTeo *et al.* の評価法を用いて判定された高度社会的フレイルは、18.4%、軽度のもの(プレフレイル)は35.6%である¹⁰⁾。

認知的フレイルの頻度は我が国では1.2%¹⁵⁾、海外では4.4%である¹⁶⁾。社会的フレイルおよび認知的フレイルの我が国と海外との頻度に幅があるのはそれぞれが独自の定義を用いて統一された定義がないためである。

1-4. フレイルの転機

フレイルは日常生活に支障がない健康な状態と要支援・要介護状態の中間に位置し、適切な介入がなければ要介護そして死亡リスクを高める。多面的なフレイルの中でも身体的フレイルは、加齢による骨格筋量や筋力の低下、これに伴う身体機能の低下、さらに慢性的な低栄養などが相互に関連しあって、近い将来に日常生活機能障害や要介護をきたすとされている。

我が国の地域在住の65歳以上の高齢者のうち、要介護に移行した健常な高齢者は、調査開始2年後には1.2%であったに対して、フレイルでは17.6%、プレフレイルでは4.3%が要介護に移行したことが報告されている¹⁷⁾。要介護認定の予測しうる項目として身体機能低下(ハザード比(HR):2.32)、筋力低下(HR:1.90)、そして体重減少(HR:1.61)の順であることが指摘されている¹⁷⁾。さらに、身体的フレイルに認知機能の低下を合併した高齢者は、30.3%が要介護に移行したことを報告している。海外からのメタ解析による報告では、死亡リスクは1.8～2.3倍、日常生活活動低下のリスクは1.6～2.0倍、入院リスクは1.5～2.6倍、身体機能低下(歩行速度、握力などの低下)は1.5～2.6倍、骨折・転倒リスクは1.2～2.8倍それぞれ高いことが報告されてい

る¹⁸⁾。

認知症発症との関連性については、アルツハイマー型認知症に対する HR は 1.28, 血管性認知症に対しては 2.70, すべての認知症に対しては 1.33 と有意の相関性が証明されている。また、女性はアルツハイマー型認知症へのリスクが高いことを指摘している¹⁹⁾。

社会的フレイルの転機について、Makizako *et al.* は前述した彼らの評価法を用いて 65 歳以上の地域高齢者の 2 年間の追跡調査した結果、社会的フレイルの高齢者は要介護となる HR が 1.66, プレフレイルのそれは 1.55 でそれぞれ高いことを報告している¹⁰⁾。また、田中らは Makizako *et al.* と同様の評価法を用いて 4 年間の追跡調査の結果、社会的フレイルに身体的フレイルが重複した場合、要支援・要介護の認定リスクは約 3.3 倍、死亡リスクは 3.4 倍高いことを報告している²⁰⁾。海外において Teo *et al.* は、高度の社会的フレイルの高齢者は 3～6 年間の追跡調査の結果、要支援者となるオッズ比 (OR) は 2.41 ($P=0.001$), 重度の要介護者となる OR は 6.06 ($P=0.142$) であることを報告している¹¹⁾。さらに、社会的フレイルに身体的フレイルが重複した場合、重度の要介護への移行は ROC (receiver operator characteristics) 曲線下面積が 0.81 であることから予後指標として有用であることを指摘している¹¹⁾。

以上から、身体的フレイルや社会的フレイルあるいは両者が合併したフレイルは、要支援・要介護認定および死亡のリスクを高めることが示唆されている。

2. フレイルと栄養について

2-1. 加齢と低栄養時の筋肉

ヒトが食物を摂取し消化吸収したグルコースは、肝臓や筋肉にグリコーゲンとして貯蔵され、脂肪酸は皮下脂肪組織に脂肪として貯蔵される。常時グリコーゲンや脂肪は、再びグルコースや脂肪酸に分解されて細胞内で燃焼 (酸化) されてエネルギー源である ATP を合成する。この ATP の分解時の化学エネルギーによって生命活動が維持されている。多くの細胞はグルコースと脂肪の両方を燃料として利用しているが、脳と赤血球はグルコースのみしか利用できない。生命活動を 24 時間休みなく維持していくためには、脳と赤血球はグルコースを 1 日当たり

それぞれ約 90g, 約 45g 総計 135g (約 6g/時間) 消費している²¹⁾。この 6g/時間はヒトが生きていくための絶対必要量である²¹⁾。絶対必要量のグルコースを維持するため肝臓の貯蔵グリコーゲンが主に利用されているが、枯渇した場合には、筋タンパク質の分解によって供給されるアミノ酸から肝臓の糖新生系によってグルコースが合成される。

筋肉の機能は身体の運動のみならず、空腹時や絶食時に自己の構成成分であるタンパク質をアミノ酸に分解して、肝臓でグルコースを合成する機能をも併せ持っている。この機能によりグルコースの絶対必要量が賄われており、血中グルコース濃度を 60mg/dL 以下にならないようにして脳機能を維持している。飢餓状態あるいは低栄養状態が続いた場合の耐久力は、筋肉タンパク質に依存していることになる。骨格筋量 (外側広筋の筋横断面積) は加齢に伴い減少し、70 歳代では 10～20 歳代に比較して約 26% の減少、80 歳代では約 43% の減少することが報告されている²²⁾。しかし、山田らは外側広筋の横断面積の低下率は約 26% であるが、筋線維数と平均筋線維サイズの積「筋線維の総断面積」は約 49% の低下率であり、骨格筋量の低下率と骨格筋細胞量の低下率とは異なることを指摘している²³⁾。高齢者の骨格筋は量、質ともに低下していることが窺える。

加齢に伴う自然現象としての骨格筋量や筋線維数の減少 (骨格筋細胞量の減少) に加えて、フレイル状態での低栄養による筋タンパク質の消費が相加され図 2 に示す如くフレイルの悪循環に陥る。この悪循環を断ち切るために栄養管理、および運動療法が必要となる由縁である。

2-2. フレイル予防のためのタンパク質摂取量

食物中のタンパク質は消化管で種々のアミノ酸に分解された後、体内に吸収されこれを素材にして細胞内でタンパク質を合成する。一方、体を構成するタンパク質は絶えず分解されており、タンパク質は動的平衡を保っている。タンパク質はヒトの体重の 15% を占めており、その代謝回転は速く 1 日に総タンパク質の 2% 前後が分解されている。体重 65kg のヒト (50～69 歳男性の参照体重) では、1 日当たり約 200g のタンパク質が分解されている。この分解で生じるアミノ酸の 2/3 は再合成に利用さ

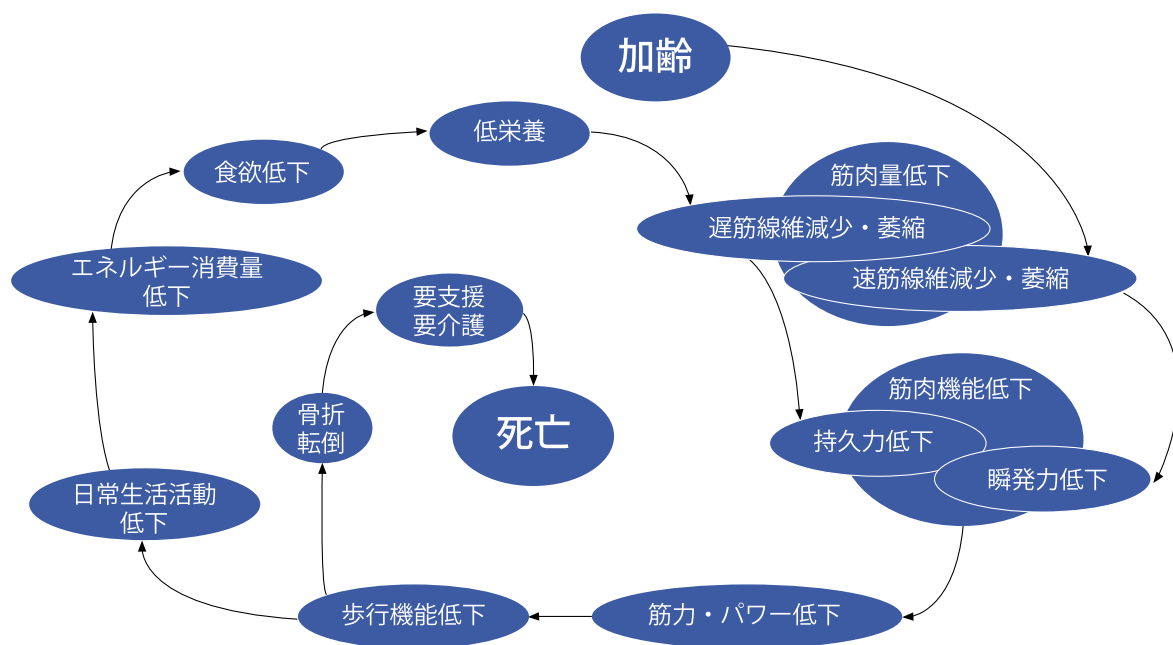


図2 フレイルサイクル

れ、残りの量は他の物質に転換され、燃焼して完全に分解される。この分解される量（体重の約0.1%）のアミノ酸は毎日補給されなければならない²⁴⁾。

我が国の成人のタンパク質の推定平均必要量は 0.72g/kg 体重 / 日で、高齢者は 0.85g / kg 体重 / 日とされている²⁵⁾。この高齢者の必要量はフレイル予防のために策定されたものではない。高齢者では、体タンパク質の動的平衡の維持と骨格筋量の低下の予防（フレイル予防）の両面より、必要量が考慮されなければならない。日本人女性高齢者（平均年齢 74.7 歳）を対象とした横断研究において、70g / 日（約 1.4g/kg 体重 / 日、著者概算値）以上のタンパク質摂取群は 63g / 日（約 1.2g/kg 体重 / 日、著者概算値）以下の摂取群に比較して、フレイル発症率が低いこと（OR:0.64 ~ 0.66）が報告されている²⁶⁾。海外の報告では、高齢者のタンパク摂取量 0.80g / 体重 / 日は少ないと指摘されていた²⁷⁻³⁰⁾。これらの先行研究を踏まえて、Houston *et al.* は高齢者男女（平均年齢 74.5 歳）において、0.80g/kg 体重 / 日の摂取群の 3 年後の筋肉量の減少（ -0.883 ± 0.104 kg）が 1.2g/kg 体重 / 日の摂取群（ -0.501 ± 0.106 kg）に比較して有意に高いことを報告している³¹⁾。さらに、Beasley らは女性高齢者（65 ~ 79 歳）の 3 年間の追跡調査にて、1.2g/kg 体重 / 日の高タンパク摂取群は 1.0g/kg 体重 / 日に比較してフレイル発症率が 35% 抑制されたことを報告している³²⁾。これらの文献を含めたエビデ

ンスに基づいて、高齢者の至適なタンパク摂取量は、 $1.0 \sim 1.2\text{g/kg}$ 体重 / 日の摂取が推奨されている³³⁾。また、日常活動量の多い、あるいは日々運動している高齢者には 1.5g/kg 体重 / 日の摂取量が推奨されている³³⁾。

2-3. タンパク質摂取量の上限

高齢者の骨格筋量の低下を予防し、かつ筋タンパク質の合成を促進して筋肉量を維持するためには、若年者よりも多くの摂取量が必要とされている。しかし、その上限値は不明である。

Tarnopolsky *et al.* は健康成人（トレーニング実施者と一般成人）におけるタンパク質摂取量と体タンパク質の合成速度の面より検討した。その結果、一般成人において 0.80g/kg 体重/日の摂取量の体タンパク質合成速度は、1.41g/kg 体重/日および 2.4g/kg 体重/日の摂取量との間に差が見られなかった。一方、トレーニング実施者では体タンパク質の合成速度は用量依存的に高くなるが、2.4g/kg 体重/日摂取しても体タンパク質の合成速度の増加は、1.4g/kg 体重/日との間に有意差は見られなかったことを報告している³⁴⁾。井上らは 2.0g/kg 体重/日以上 の摂取量にさらに 0.3g/kg 体重/日のタンパク質サプリメントを追加しても、追加分のほぼ同じ量が尿素窒素として排泄されることを報告している³⁵⁾。何れの報告の対象者は健康な成人であり、筋タンパ

ク質の合成速度でなく体タンパク質の合成速度での検討である。筋タンパク質の合成速度と摂取タンパク質量との関係を、高齢男性（平均年齢 71 歳）と若年男性（平均年齢 22 歳）で比較検討した Moore *et al.* の報告では、高齢者において筋タンパク質合成速度の低下が摂取タンパク質の摂取量の低い領域（0.40g/kg 以下）で見られるもの高領域（0.40g/kg 以上）では大きな差が見られない³⁶⁾。これらの先行研究より推定するに、高齢者のフレイル予防としてのタンパク摂取量は 1.5/g/kg 体重 / 日が上限値であると考えられる。

2-2. 摂取タンパク質の質（良質なタンパク質）

食品に含まれる必須アミノ酸の含有量が、世界保健機構（WHO）、国連食糧農業機関（Food and Agriculture Organization）、および国連大学（United Nations University）によって定められた基準を満たしているか否かの評価法として「アミノ酸スコア」がある。9 種類すべての必須アミノ酸がこの基準を充たしていれば、アミノ酸スコア「100」として良質なタンパク質とみなされる。どれか一種類がこの基準の 60% ならば「60」と判定される。

動物性食品、卵、牛乳、大豆およびその加工品などは、アミノ酸スコアが 100 なので、これらの食品を食べることが良質なタンパク質の摂取につながる。Yamaguchi *et al.* は 65 歳以上の地域住民を対象とした横断研究において、上記良質なタンパク質のうち、魚介類を高頻度に摂取している男女、また女性においては牛乳の高摂取量群は、いずれもほとんど摂取していない群に比較してフレイル発症率が、39～31% 抑制されたことを報告している³⁷⁾。

筋タンパク質の合成面や筋肉で利用され易さの面より、分子鎖アミノ酸のロイシン、イソロイシン、バリンが高齢者にとって重要なアミノ酸である。特にロイシンは血中濃度依存的に筋タンパク質合成速度が上昇すること³⁸⁾、さらに、筋タンパク質合成に重要な働きを担っているほ乳類ラパマイシン標的タンパク質複合体 1（mammalian target of rapamycin complex1 mTORC1）を活性化することが報告されている³⁹⁾。ロイシンを多く含有している上記良質タンパク質の摂取は、骨格筋の材料を提供するのみならず、筋タンパク質の合成速度も速める作用もあるので身体的フレイルの予防に期待できる。

3. フレイルとサプリメントについて

3-1. アミノ酸製剤

食事として十分なタンパク質の摂取ができない高齢者の窒素源の補給法として、アミノ酸サプリメントが注目されている。

20 種類すべてのアミノ酸を含むサプリメントと、必須アミノ酸のみを含むサプリメントを高齢者に摂取させたところ、筋タンパク質合成速度は同程度であったことが、Volpi *et al.* により報告されている⁴⁰⁾。この結果は、必須アミノ酸のみが筋タンパク質合成に関与していることを示唆している。ロイシンが上述したように筋タンパク質合成に重要な働きを担っていることより、高齢者（平均年齢 66.7 歳）と若年者（平均年齢 28.8 歳）におけるロイシン高配合必須アミノ酸製剤の筋タンパク質合成の効果、Katsanos *et al.* は検討した。その結果、必須アミノ酸にロイシンを 26% 含有した製剤で筋タンパク質合成速度の有意の上昇は見られなかったが、ロイシン 41% 高含有アミノ酸製剤では有意の上昇効果（摂取前 $0.038 \pm 0.007\%$ / 時間、摂取後 $0.056 \pm 0.008\%$ / 時間）が見られた⁴¹⁾。

それでは、ロイシン高容量含有アミノ酸製剤は、身体的フレイルの改善に効果があるのか？サルコペニアが顕在化している日本人高齢女性（平均年齢 79 歳）にロイシン高容量（42%）含有アミノ酸製剤単独を摂取させた群（6g/ 日、3 か月間）では、「歩行速度」の有意の増加は認められたものの、下肢筋肉量や膝伸展筋力の変化は認められなかった。しかし、運動（レジスタンストレーニング 2 回 / 1 週間）併用群では下肢筋肉量および膝伸展筋力ともに有意の増加（OR:4.89）が、認められたことを Kim *et al.* は報告している⁴²⁾。すなわち、身体的フレイルの最大要因であるサルコペニアが顕在化している高齢者に、ロイシン高容量含有アミノ酸製剤単独摂取の身体的フレイルの改善効果は不十分であるが、運動付加を併用することにより効果がみられることが示唆される。筋肉組織の再生に主役の筋サテライト細胞は骨格筋組織への力学的負荷により活性化され、増殖を開始することが知られている⁴³⁾。一方、加齢とともに筋サテライト細胞の数および増殖能力は減少することが報告されている⁴⁴⁾。しかし、アミノ酸製剤の補助のもと高齢者においても力学的負荷により筋肉組織の再生が可能であることが推察さ

れる。

身体的フレイル高齢者にロイシン高容量（42%）含有アミノ酸製剤を摂取し、さらに、力学的負荷（レジスタンス運動）をかけることにより筋肉量の増加、そして筋力の増強が起こり健常状態（自立できる状態）への移行が期待される。

3-2. プロテイン（タンパク質）製剤

高齢女性（66±2.5歳）に、ホエイタンパク質20gを単回摂取した際の筋タンパク質合成速度の増加は、摂取前（0.066±0.006%/時間）に比較して、摂取後2時間値（0.082±0.009%/時間）と有意の増加を示し、ロイシン高容量（40%）含有アミノ酸製剤3g単回摂取と同程度の筋タンパク質合成速度増加であることを Bukhari *et al.* は報告している⁴⁵⁾。しかし、摂取4時間後は何れの摂取群においても摂取前値に戻ったが、片側の下肢伸展運動負荷することにより、運動負荷下肢筋肉のタンパク質合成速度の増加（0.093±0.007%/時間）が認められた。

フレイル65名（プラセボ群81±1歳、摂取群78±1歳）に、ミルクプロテインを30g/日、6カ月間、1日2回に分けて摂取したところ、骨格筋量の増加は認められなかったが、下肢伸展力の有意の増加、および椅子からの立ち上がり機能の有意の改善が、認められたことが報告されている⁴⁶⁾。プロテインサプリメントを補助することによりタンパク摂取量が、1.0g/kg体重/日から1.4g/kg体重/日に増加したにもかかわらず、骨格筋量の増加が認められなかったことに対して、同じ著者らはフレイル62名に同じ条件下でレジスタント運動を週2回負荷した。その結果、ミルクプロテイン摂取群は骨格筋量（摂取前47.2kg、6カ月後48.5kg）、および体脂肪除脂肪量（appendicular lean mass）（摂取前19.3kg、6カ月後21.0kg）ともに有意の増加を認めた⁴⁷⁾。

Kim *et al.* は乳脂肪球皮膜（milk fat globule membrane (MFGM)）を1g/日、3カ間摂取群と運動の併用（1時間の筋力強化運動と歩行機能とバランス訓練を1時間、週2回施行）による健常状態（非フレイル）への移行の効果を検討した。その結果、フレイル解消率は併用群では57.6%とプラセボ群の30.3%に比較して有意に高いことを報告している⁴⁸⁾。しかし、MFGM単独群のみでは28.1%とプラセボ群との間に有意差は認められなかった。

アミノ酸製剤と同様にプロテイン製剤の摂取と力学的負荷（運動）との併用が、筋力増強および筋肉量の増加をもたらすフレイル解消（健常状態への移行）には効果があると言える。

3-3 ビタミンD

加齢とともに骨のミネラル成分の減少による骨密度の低下と、微細構造の変化などを起こし骨強度が低下する。骨格筋量や筋力の低下と相まって骨折リスクが高くなる。骨折による運動機能・移動機能低下により、骨格筋の廃用性筋萎縮をきたし寝たきり状態となる。要介護を要する原因の12.1%を骨折・転倒が占めている⁵⁾。

ビタミンDは腸管でのカルシウムの吸収を促進し、カルシウム代謝、骨代謝に密接にかかわる栄養素である。さらに、ビタミンDは骨格筋細胞のビタミンD受容体に結合することにより筋タンパク質合成を引き起こし、また、カルシウムの細胞への取り込みを増強させる。従って、ビタミンDは筋力保持に重要な栄養素でもある。

日本人高齢者（65歳以上）の横断的研究において、血中ビタミンD濃度（25-ハイドロキシビタミンD）（25(OH)D）は、男性28.5±0.5ng/mL、女性は24.2±4.9ng/mLで女性の濃度は男性に比較して有意に低い、と同時に年齢とともに減少する⁴⁹⁾。25(OH)D値20ng/mLを基準値に用いると、それ以下の男性の頻度は4.8%、女性は17.7%であった。20ng/mL以下の女性群はそれ以上の群に比較して、歩行速度の低下や開眼片足立ち時間の低下など身体機能低下が見られる、と同時に過去1年間における転倒経験（25.8% vs 17.0%）、転倒回数（1.7±1.3回 vs 1.4±1.5回）が有意差をもって高いことが報告されている⁴⁹⁾。同じ著者らのグループは、この女性群を1年間追跡調査した結果、20ng/mL以下の群は25ng/mL群に比較して転倒回数（OR: 1.40）、および転倒再発回数（OR: 1.47）がともに高いことを報告している⁵⁰⁾。

25(OH)D値とフレイルまたはプレフレイルとの関連を、Pabst *et al.* は平均年齢75.6歳の男女高齢者について検討した。その結果、25(OH)D値15ng/mL以下を参照値にした際のORは、15～<20ng/mLで0.52、20～<30ng/mLで0.55、30ng/mL以上で0.32とフレイルまたはプレフレイルの有病者

が少ないこと、および、30ng/mL以上の高値群は15ng/mL以下の低値群に比較して、Fried CHS基準の「疲労感」、「身体活動低下」、「歩行速度低下」の項目に該当する者は少なかったことを報告している⁵¹⁾。同じグループのVogt *et al.* は非フレイル高齢者の2.9年間の追跡調査の結果、15ng/mL以下の低値群の30ng/mL以上の高値群に対するプレフレイルの有病ORは2.43、フレイルまたはプレフレイルの有病ORは2.53で有意の高値が認められたものの、フレイル単独の有病ORは2.63と高値ではあるが有意差は認められなかった⁵²⁾。この要因として症例数の少なさをあげている。さらに、15ng/mL以下の低値群の死亡率は4.9倍高いことを指摘している。死亡率との関連性についてShardell *et al.* は、65歳以上の地域住民の3年間の追跡調査にて、フレイル群における20ng/mL以下の低値群の死亡率は35.2%、高値群では34.7%と変わらないのに対して、プレフレイルの低値群では14.1%、高値群の5.2%と有意に高くプレフレイルの段階での治療の必要性を指摘している⁵³⁾。

ビタミンDサプリメント摂取の高齢者の転倒予防や身体活動についての効果に関して、2003年Latham *et al.* の系統的レビューにおいて「効果が認められた」論文は挙げられていなかった⁵⁴⁾。その後、Broe *et al.* は施設入居高齢者にビタミンDサプリメント5か月間摂取した群の転倒リスクは、75%減少することを報告している⁵⁵⁾。しかし、地域住民

あるいはフレイル高齢者を対象とした介入効果検証試験の検討した報告はなく今後の研究が望まれる。

おわりに

高齢化社会は世界的な傾向であり我が国は既に超高齢化社会に入っており世界の注目の的になっている。75歳以上の高齢者の約10%は身体的フレイルの状態にあり、プレフレイルは約40%とされている。フレイルは要介護と自立できる健常状態の中間に位置し、適切な介入により、再び健常な状態に戻るといふ可逆性が含まれているため、早期に発見し、しかるべき介入することが重要である。加齢に伴い骨格筋量や筋力の低下が身体的フレイルの大きな要因である。この筋肉量や筋力の低下を防ぎ歩行・移動能力（機能）を維持するためには、日々の食事からの高タンパク質摂取と同時に適度の運動の併用が必須である。さらにサプリメントを含めた栄養管理や運動療法が、身体的フレイルの治療のみならず予防にも効果があることが、多くの報告で認められている。フレイルは身体的フレイルのみならず精神・心理的フレイルおよび社会的フレイルを含む多面的概念である。身体的フレイルが解消されることにより、運動・移動機能が改善されて積極的に社会参加が可能となり社会的フレイルが、そして、運動することによる認知機能低下の予防による精神・心理的（認知）フレイルが、それぞれ解消されて健康で健全な老後が送れることが期待される。

参考文献

1. 健康寿命. <https://1post.jp/3120>
2. 総務省統計局ホームページ / 人口推計 <http://www.stat.go.jp/data/jinsui/pdf/201911.pdf>
3. 内閣府：平成 29 年版高齢白書 <https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/index-w.html>
4. 厚生労働省保健局：介護費の動向について 2016. <http://www5.cao.go.jp/keizaishimon/kaigi/special/reform/wg1/280323/shiryoku4.pdf>
5. 厚生労働省：平成 28 年国民生活基礎調査の概況. 国民生活基礎調査 2017. <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-tyosa/k-tyosa16/index.html>
6. 荒井秀典 編集主幹：フレイル診療ガイド 2018 年版. ライフ・サイエンス出版. 東京. 2018.
7. サルコペニア診療ガイドライン作成委員会：サルコペニア診療ガイドライン 2017 版. ライフ・サイエンス出版. 東京. 2017.
8. Fried LP, Tagen CM, Walston J, *et al.*: Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* **56**: M146-156, 2017.
9. Satake S, Shimokata H, Senda K, *et al.*: Validity of total Kihon Checklist score for predicting the incidence of 3-year dependency and mortality in a community-dwelling older population. *J Am Med Dir Assoc.* **18**: 552, e1-6, 2017.
10. Makizako H, Shimada H, Tsutsumimoto K, *et al.*: Social frailty in community-dwelling older adults as a risk factor for disability. *J Am Med Dir Assoc.* **16**: 1003, e1007-1011, 2015.
11. Teo N, Gao Q, Nyunt MSZ, *et al.*: Social frailty and functional disability: findings from the Singapore longitudinal aging studies. *J Am Med Dir Assoc.* **18**: e13-19, 2017.
12. Kojima G, Iliffe S, Taniguchi Y, *et al.*: Prevalence of frailty in Japan: a systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol.* **27**: 343-353, 2017.
13. Kojima G. Prevalence of Frailty in Nursing Homes: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Dir Assoc.* **16**: 940-945, 2015.
14. Collard RM, Boter H, Schoevers RA, Oude Voshaar RC.: Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review. *J Am Geriatr Soc.* **60**: 1487-1492, 2012.
15. Shimada H, Makizako H, Lee S, *et al.*: Impact of cognitive frailty on daily activities in older persons. *J Nutr Health Aging.* **20**: 729-735, 2016.
16. Roppolo M, Mulasso A, Rabaglietti E.: Cognitive frailty in Italian community-dwelling older adults: prevalence rate and its association with disability. *J Nutr Health Aging.* **21**: 631 -636, 2017.
17. Makizako H, Shimada H, Doi T, *et al.*: Impact of physical frailty on disability in community-dwelling older adults: a prospective cohort study. *BMI Open.* **5**: e008462, 2015.
18. Vermeiren S, Vella-Azzopardi R, Beckwè D, *et al.*: Frailty and the prediction of Negative Health Outcomes: A Meta-Analysis. *J Am Med Dir Assoc.* **17**: 1163. e1- 1163. e17, 2016.
19. Kojima G, Taniguchi Y, Iliffe, *et al.*: Frailty as a predictor of Alzheimer disease, vascular dementia and all dementia among community-dwelling older people: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Dir Assoc.* **17**: 881-888, 2016.
20. 田中友規：「フレイルのみかた」. 荒井秀典編. 中外医学社. p24 -30, 2018.
21. 田川邦夫：からだの働きからみる代謝の栄養学. タカラバイオ株式会社発行. p2-3, 2009.
22. Lexell J, Taylor CC, Sjostrom M.: What is the cause of the ageing atrophy ? Total number, size, and population of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old-men. *J Neurol Sci.* **84**: 275 -294, 1988.
23. 山田陽介：骨格筋量・サルコペニアの定義を再考するー機能的骨格筋細胞量・筋内組成に着目してー. 体力科学. **64**: 461-472, 2015.
24. 田川邦夫：からだの働きからみる代謝の栄養学. タカラバイオ株式会社発行. p 113 , 2009.
25. 厚生労働省：「日本人の食事摂取基準 (2015 版) 策定検討会報告書 <https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000042630.pdf>
26. Kobayashi S, Asakura K, Suga H, *et al.*: High protein intake is associated with low prevalence of frailty among old Japanese women: a multicenter cross-sectional study. *Nutr J.* **12**: 164, 2013.
27. Chenoff R.: Protein and old adults. *J Am Coll Nutr.* **23** (suppl): 627s-630s, 2004.
28. Campbell WW, Trappe TA, Wolfe RR, Evans WJ.: The recommended dietary allowance for protein may not be adequate for older people to maintain skeletal muscle. *J Gerontol Med Sci.* **56** A: M373-380, 2001.
29. Evance WJ.: Protein nutrition, exercise and aging. *J Am Coll Nutr.* **23** (suppl): 601S-609S, 2004.
30. Dreyer HC, Volpi E.: Role of protein and amino acids in pathophysiology and treatment of sarcopenia. *J Am Coll Nutr* **24** (suppl): 140 S-145S, 2005.
31. Houston DK, Nicklas BJ, Ding J, *et al.*: Dietary protein intake is associated with lean mass change in older, community-dwelling adults: the health, aging, and body composition (Heath ABC) study. *Am J Clin Nutr.* **87**: 150-155, 2008.
32. Beasley JM, LaCrok AZ, Neuhouser ML, *et al.*: Protein intake and incident frailty in the women's health initiative observation study. *J AM Geriatr Soc.* **58**: 1063 -1071 , 2010.
33. Bauer J, Biolo G, Cederholm T, *et al.*: Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: A position paper from the PROT-AGE Study Group. *J Am Med Dir Assoc.* **14**: 542 -559, 2013.
34. Tarnopolsky MA, Atkinson SA, MacDougall JD, *et al.*: Evaluation of protein requirements for trained strength athletes. *J Appl Physiol.* **73**: 1986-1995, 1992.
35. 井上なぎさ, 小清水孝子, 田畑照秀, 他：プロテインサプリメントが自転車競技アスリートのトレーニング効果に与える影響. 日本スポーツ栄養研究誌. **6**: 18-27, 2013.

36. Moore DR, Churchward-Venne TA, Witard O, *et al.*: Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* **70**: 57-62, 2015.
37. Yamaguchi M, Yamada Y, Nanri H, *et al.*: Association between the frequency of protein-rich food intakes and Kihon-Cheklist frailty indices in older Japanese adults: The Kyoto-Kameoka Study. *Nutrients* **84**; doi: 10.3390/nu10010084, 2018.
38. Pennings B, Boirie Y, Senden JMG, *et al.*: Whey protein stimulates postprandial muscle protein acceleration more effectively than do casein and casein hydrolysate in adult men. *Am J Clin Nutr.* **93**: 997-1005, 2011.
39. Egerman MA and Glass DJ.: Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* **49**: 59-68, 2014.
40. Volpi E, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, *et al.*: Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults. *Am J Clin Nutr.* **78**: 250-258, 2003.
41. Katosanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, *et al.*: A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrin Metab.* **291**: E381-387, 2006.
42. Kim HK, Suzuki T, Saito K, *et al.*: Effects of exercise and amino acid supplementation on body composition and physical function in community-dwelling elderly Japanese sarcopenic women: a randomized controlled trial. *J Am Geriatr Soc.* **60**: 16-23, 2012.
43. 町田修一：スポーツ現場に生かす運動生理・生化学。樋口満編著。市村出版。p49-60, 2011.
44. Howke TJ, and Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology in molecular biology. *J Appl Physio.* **91**: 534-551, 2001.
45. Bukhari SS, Phillips BE, Wilkinson DJ, *et al.*: Intake of low-dose leucine-rich essential amino acids stimulates muscle anabolism equivalently to bolus whey protein in older women at rest and after exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **308**: E1056-1065, 2015.
46. Tieland M, van de Rest O, Dirks ML, *et al.*: Protein supplementation improves physical performance in frail elderly people: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Med Dir Assoc.* **13**: 720-726, 2012.
47. Tieland M, Dirks ML, van der Zwaluw N, *et al.*: Protein supplementation increases muscle mass gain during prolonged resistance-type exercise training in frail people: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Med Dir Assoc.* **13**: 713-719, 2012.
48. Kim H, Suzuki T, Kim M, *et al.*: Effects of exercise and milk fat globule membrane (MFGM) supplementation on body composition physical function, and hematological parameters in community-dwelling frail Japanese women: a randomized double blind, placebo-controlled, follow-up. *Plos One.* **10**: e0116256, 2015.
49. Suzuki T, Kwon J, Kim H, *et al.*: Low serum 25-hydroxyvitamin D levels associated with falls in Japanese community-dwelling elderly. *J Bone Miner Res.* **23**: 1309-1317, 2008.
50. Shimizu Y, Kim H, Yoshida H, *et al.*: Serum 25-hydroxyvitamin D level and risk of falls in Japanese community-dwelling elderly women: a 1-year follow up study. *Osteoporos Int.* **26**: 2185-2192, 2015.
51. Pabst G, Zimmermann AK, Huth C, *et al.*: Association of low 25-hydroxyvitamin D levels with frailty syndrome in an aged population: Results from the KORA-age Augsburg study. *J Nutr Health Aging.* **19**: 258-264, 2015.
52. Vogt S, Decke S, de las Heras Gala T, *et al.*: Prospective association of vitamin D with frailty status and all-cause mortality in older adults: Results from the KORA-Age Study. *Prevent Med.* **73**: 40-46, 2015.
53. Shardell M, D'Adamo C, Alley DE, *et al.*: Serum 25-hydroxyvitamin D, transitions between frailty states, and mortality in older adults: the Invecchiare in Chianti Study. *J Am Geriatr Soc.* **60**: 256-264, 2012.
54. Latham NK, Anderson CS, Reid IR. Effects of Vitamin D supplementation on strength physical performance and falls in older person: a systematic review. *J Am Geriatr Soc* **51**: 1219-1226, 2003.
55. Broe KE, Chen TC, Weinberg J, *et al.*: A high dose of Vitamin D reduces the risk of falls in nursing home residents. a randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc.* **55**: 234-239, 2007.

現代チーズ学

編集

齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科
堂迫 俊一 雪印乳業株式会社 技術研究所
井越 敬司 東海大学農学部

現代チーズ学

The Contemporary Cheese Science

現代チーズ学

編集
齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科
堂迫 俊一 雪印乳業株式会社 技術研究所
井越 敬司 東海大学農学部

食品資材研究会

編集
齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科
堂迫 俊一 雪印乳業株式会社 技術研究所
井越 敬司 東海大学農学部



食品資材研究会

480 ページ超の大迫力！
業界第一人者が集結！
チーズ研究の必携書

チーズ研究の頭脳集結！
熟成した研究成果を、
じっくり書き上げた
問い合わせ殺到の
究極のチーズ技術書！

PDF 版 いよいよ
発売!!お問合せは
エヌエフアイまで

■B5版／496ページ

■定価：(本体4,000円+税)

■発行：エヌエフアイ

現代チーズ学 目次

1. チーズの歴史、食文化、分類および生産
 - 1.1 チーズの起源と歴史 大谷 元
 - 1.2 チーズの食文化 村山 重信
 - 1.3 チーズの分類と名称 村山 重信
 - 1.4 世界のチーズの生産・輸出入と消費 伊藤 晋治
2. チーズの基礎科学
 - 2.1 乳の成分科学 石田 光晴
 - 2.2 チーズ製造の基本フロー 齋藤 忠夫
 - 2.3 乳酸菌スターターの科学 宮本 拓
 - 2.4 キモシンによる凝乳機構 阿久澤良造
 - 2.5 チーズの熟成機構 井越 敬司
3. チーズの製造技術と衛生管理
 - 3.1 クリームチーズ 岩附 慧二
 - 3.2 モッツアレラチーズ 橋本 英夫
 - 3.3 カッテージチーズ 久米 仁司
 - 3.4 熟成型チーズ 田中 穂積
 - 3.5 キモシン酵素利用の現状 高見 修平
 - 3.6 プロセスチーズ 川崎 功博
 - 3.7 チーズの包装技術 佐々木敬卓
 - 3.8 チーズ製造の衛生管理 柳平 修一
鈴木 明
花形 吾朗

4. チーズの機能性
 - 4.1 チーズの微細構造 木村 利昭
 - 4.2 一次機能 根岸 晴夫
 - 4.3 二次機能 井筒 雅
 - 4.4 三次機能 堂迫 俊一
 - 4.5 チーズとホエイに含まれるタンパク質の免疫科学 大谷 元
5. ホエイ成分の高度利用
 - 5.1 チーズホエイとその成分別調製技術 元島 英雅
野島 一晃
 - 5.2 機能性オリゴ糖 浦島 匡
 - 5.3 機能性ホエイ味噌 六車三治男
6. チーズの諸制度と知的財産権
 - 6.1 チーズの規格基準と表示規制 石田 洋一
 - 6.2 チーズの知的財産権 工藤 力
7. 近未来のチーズ学
 - 7.1 チーズ製造技術の変遷と進歩 相澤 茂
 - 7.2 近未来のチーズ製造技術 市橋 信夫
 - 7.3 新しいタイプの機能性チーズの開発 松尾 光郎
 - 7.4 スターター乳酸菌における遺伝子組替え技術の応用 佐藤 英一

お申し込み・お問い合わせは、
FAX・お電話・WEB にて

電話：042-312-0836

FAX：042-312-0845

エヌエフアイ合同会社

新型コロナウイルス感染症に対する 最新知見と有効な漢方薬

肖 黎 (Li Xiao)*

Key Words: 新型コロナウイルス, COVID-19, 感染症, SARS-CoV-2, 漢方薬

はじめに

2019年12月から、中国の武漢で発生した新型コロナウイルス感染症は猛威を振るい、21世紀の大疫と言っても過言ではない、中国をはじめとする世界中に甚大な被害を及ぼした。現時点（2020年2月17日）で中国の感染者数7万人以上（中国以外の感染者が693人）、死者が1700人超（中国以外の死者が4人）。これは2002年11月～2003年7月に流行した重症急性呼吸器症候群（SARS）の感染者数8096人と死者数774人を超えた。

日本でも感染者数が世界二位の414人（クルーズ船感染者含む）に上った。特にクルーズ船ダイヤモンド・プリンセス号で起きた集団感染者数が355人（2020年2月17日現在）も確認され、深刻な事態になった。新型コロナウイルス感染症が発症以来、中国、アメリカ、ドイツ等各国の研究グループが数十報の論文を発表し、中国の国家衛生健康委が5回にわたって診療ガイドラインを改訂した。新型コロナウイルス感染症に対して西洋医学では有効な治療薬がない。それに対して、中国の臨床現場では漢方医学による治療が良好な効果を示すことが観察された。

作者の同級生潘承玲氏が責任編集者として勤めている中国の大手出版社中国中医薬出版社は早々に「新型コロナウイルス肺炎漢方医学診療ハンドブック」を出版した。本総説では新型コロナウイルス感染症に対する最新知見、および中国の臨床現場で用いた漢方医学による治療方法について説明する。

1. 病原体

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の病原体は、エンベロープRNAウイルスで、International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) により SARS-CoV-2（重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2）と命名された。SARS-CoV-2は感染性があるコロナウイルススーパーファミリーに属している。同じコロナウイルスであるMERS-CoV（2012年に発生した中東呼吸器症候群コロナウイルスの略称）とSARS-CoV（2002～2003年に流行した重症急性呼吸器症候群コロナウイルスの略称）と相似性がある¹⁾。SARS-CoV-2のゲノムの配列がコウモリが持つコロナウイルスと96%、穿山甲のコロナウイルスと99%一致したことから、その感染源がコウモリ由来、中間宿主が穿山甲である可能性が高いと報告されている²⁾。

コロナウイルスは紫外線と熱に敏感で、56℃30分、75%エタノール、次亜塩素酸ナトリウムをはじめとする塩素系消毒剤等により失活する。クロルヘキシジンはコロナウイルスに対して有効性が認められない³⁾。

2. 伝染の様式と感染力

SARS-CoV-2の伝染様式は主に接触感染と飛沫感染である。直接的な証拠はないが、空気感染（飛沫核感染）と糞口感染も否定できない。ウイルス量（viral load）と症状との関係が見られず、大量のウ

* 日本歯科大学生命歯学部薬理学講座

〒102-0071 東京都千代田区富士見1-9-20

TEL: 03-3261-8772 Email: xiaoli@tky.ndu.ac.jp

イルスが検出されたものの、発症しない無症状病原体保有者もいるし、典型的なウイルス性肺炎を呈するにもかかわらず、通常の痰検査からウイルスが検出されず、肺胞洗浄液から辛うじてウイルスを発現した患者もいる⁴⁻⁶⁾。また、無症状病原体保有者もウイルスを他人に伝染する可能性がある。

3. 発症メカニズム

SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) は SARS-CoV と同じように、肺胞上皮細胞の AEC2 タンパク質と結合することにより、肺胞上皮を破壊し、気道に急性炎症を起こして、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) を誘発する。さらに生体側の過激な免疫反応によってサイトカインストーム (cytokine storm) が発生し、ショック・播種性血管内凝固症候群 (DIC)・多臓器不全にまで進行すると考えられている^{7,8)}。

4. 臨床的特徴

潜伏期間は通常 1～14 日、多くは 3～7 日である。主な症状は発熱、倦怠感、乾性咳嗽で、少数の患者は鼻水、咽頭痛と下痢を呈する。重症患者は多く発症後 7 日で呼吸困難/低酸素血症が見られるようになる。重篤な患者は ARDS、ショック・DIC・多臓器不全にまで進行する。多くの患者が軽症で、基礎疾患を持つ患者が重症化しやすい。中国の疫学第一人者鍾南山先生の研究グループは 552 軒の病院で確診した 1099 人の患者について分析したところ、平均潜伏期間は 3 日、6 割の患者は初診時熱がなかった、重症化率は 5.0%、死亡率が 1.36% (重症患者の死亡率は 8.1%)、医療関係者の感染率が 2.09% であることが明らかになった⁹⁾。さらに 2 月 12 日に medRxiv で発表された 9000 人近くの患者データ分析によると、69.9～76% の患者が軽症、18～25.5% の患者が重症、4.5% の患者が無症状である。死亡率が約 3.06%、R0 (Basic Reproductive Number) 推定値 (1 人の感染者が平均何人に感染症を引き起こすか) が約 3.77 である¹⁰⁾。

検査所見では、全白血球数は一般に正常又は減少、リンパ球数が減少、重症患者は D-ダイマー (フィブリンがプラスミンによって分解される際の分解産物であり、2 次性線溶の亢進により増加する) が上昇。胸部レントゲン所見では、初期の巣状浸潤陰影

から、より広汎な斑状の間質浸潤陰影とスリガラス影へと進行する³⁾。

5. 西洋医学治療

新型コロナウイルス感染症に対する治療は主に対症療法である。重症患者に対して、支持療法 (supportive care)、気管挿管での人工呼吸器と ECMO (体外式膜型人工肺) が使われる。エボラウイルス感染症のために開発された Remdesivir (ギリアド社が開発した新薬候補) は SARS-CoV と MERS-CoV に対して抑制作用を示すため、アメリカで発症した 30 代の男性患者に compassionate use (人道的使用) で投与した。投与の翌日に症状が改善、その後治癒したことから、有望な治療薬として期待されている¹¹⁾。中国の中日友好医院とギリアド社が連携して 2 月 6 日から新型コロナウイルス感染症に Remdesivir の臨床試験 (患者数 761 人、二重盲検ランダム化比較試験)¹²⁾ を開始した。その成績は 2020 年 4 月以降に発表される見通しである。また、細胞レベルの研究でも、Remdesivir とクロロキンは SARS-CoV-2 に対して良好な抑制効果を示した¹³⁾。

6. 漢方医学治療

(Traditional Chinese Medicine Treatment)

漢方医学による治療は SARS の治療に用いられ、その有効性が認められた。2003 年 10 月 8 日～10 日に SARS の流行が終息した後、日本財団等が資金を提供し、WHO は北京で SARS に対する漢方医学の治療効果について総合的に分析する国際学術大会を開催した¹⁴⁾。7 か国と地域 (香港、日本、ニュージーランド、中国、タイ、ベトナム、アメリカ) の 68 人の専門家は 13 個の臨床試験について分析した結果、漢方医学による治療は SARS 患者の症状を改善し、ステロイド薬、抗ウイルス薬の用量を減少するとともに、治癒を加速することが明らかになった。今回の新型コロナウイルス感染症についても、中国の臨床現場で漢方医学による治療が西洋医学の治療と併用している。中国の国家中医薬管理局の正式声明によると、漢方薬方剤清肺排毒湯を 214 例の患者に投与したところ、90% の有効率が得られた¹⁵⁾。その配合生薬と使用法は次の通りである。

配合生薬：麻黄 9g、炙甘草 6g、杏仁 9g、生石膏 15～30g (先に煎じる)、桂枝 9g、沢瀉 9g、猪苓

9g, 白術 9g, 茯苓 15g, 柴胡 16g, 黄芩 6g, 姜半夏 9g, 生姜 9g, 紫菀 9g, 冬花 9g, 射干 9g, 細辛 6g, 山藥 12g, 枳実 6g, 陳皮 6g, 藿香 9g

使用方法: 上記の生薬を 1 日 2 回水で煎じる。得られた汁を 1 日 2 回服用, 連続 3 日間

服用後米粥を約 100 mL 飲むのが尚可, 口乾燥者がその倍の 200 mL を飲用すること。もし患者が熱がない場合, 生石膏の量を少なめに, 発熱あるいは高熱の場合, 生石膏の用量を多めに投与すること。症状が改善される場合, さらに 3 日間を服用し, 症状がなくなったら停薬。

7. 「新型コロナウイルス肺炎漢方医学診療ハンドブック」¹⁶⁾ で紹介された治療方法

新型コロナウイルス感染症は漢方医学の「瘟疫」に属する。新型コロナウイルス感染症の最初の発症地である武漢と集団感染が起こったクルーズ船は湿度が高いため, 「湿邪」による病気だと考えられる。「新型コロナウイルス肺炎漢方医学診療ハンドブック」の執筆者の一人, 中国の新型コロナウイルス感染症応対専門家の劉清泉教授が現場から撮影した患者の舌像が例外なく膩苔であることも「湿邪」が発症の原因であることを証明した。¹⁶⁾ また, 冬に発生した病気なので, 「寒邪」と「湿邪」の相互作用によるものも考えられる。

新型コロナウイルス感染症の症状に応じて次のように漢方薬を投薬する。

●**軽症:** 軽い風邪症状を示す, レントゲン検査で肺炎が認められない³⁾。

時邪犯表証: 微熱, 軽度の鼻閉, 咽頭痛と倦怠感等風邪症状を有する。舌苔が薄白微膩あるいは微黄, 脈浮。

処方: 葱豉湯合玉屏風散加味。

配合生薬: 葱の白い部分約 10 センチ, 豆豉 10g, 生黄耆 9g, 炒白術 9g, 防風 9g, 紫蘇 6g, 金銀花 6g, 牛蒡子 9g。

●**中等症:** 全身症状がやや重い, レントゲン検査で肺炎が認められる³⁾。

寒湿疫毒襲肺証: 発熱, 寒気, 頭痛, 関節痛, 乾咳, 倦怠感, 口苦, 苔薄白微膩, 脈浮あるいは浮緊。

処方: 九味羌活湯, 神授太乙散加減。

配合生薬: 羌活 9g, 防風 9g, 蒼朮 9g, 紫蘇 6g, 葛根 9g, 細辛 3g, 川芎 9g, 香白芷 12g, 昇麻 9g, 白芍 6g, 黄芩 6g, 甘草 3g。

湿热疫毒蕴肺証: 熱が午後に高くなる, 汗が出にくい, 悪心嘔吐, 食欲不振, 下痢あるいは便秘, 強い倦怠感, 関節痛, 口が渴いても水を飲みたくない, 乾咳, 咳は止まりにくい, 口苦あるいは口の中に粘着き, 舌赤苔黄膩あるいは白厚膩, あるいは白厚似積粉, 脈滑数。

処方: 甘露消毒丹, 達原飲加減。

配合生薬: 滑石 12g, 黄芩 10g, 茵陈 10g, 石菖蒲 9g, 藿香 10g, 白蔻仁 6g, 槟榔 10g, 草果 6g, 厚朴 10g, 連翹 15g, 薄荷 6g, 射干 9g, 甘草 6g。

●**重症:** 次のいずれかの状況に当たる³⁾。

①呼吸窮迫 (RR $\geq$ 30 回 / 分),

②安静状態で指酸素飽和度 $\leq$ 93%,

③ PaO₂/FiO₂ $\leq$ 300 mmHg

痰熱壅肺, 毒鬱互結証: 高热, 咳嗽, 息苦しい, 呼吸困難, 口渴, 汗出, 舌紅苔黄あるいは紫暗, 脈滑数。

処方: 桃紅麻杏石甘湯, 桔梗湯加味。

配合生薬: 桃仁 10g, 紅花 10g, 炙麻黄 6g, 杏仁 10g, 生石膏 30g (先煎), 甘草 6g, 桔梗 10g, 枇杷葉 15g, 魚腥草 30g, 射干 10g, 萊菔子 10g。

●**極重症:** 次のいずれかの状況に当たる³⁾。

①呼吸不全, 気管挿管による人工呼吸器が必要,

②ショック,

③その他の臓器機能不全で集中治療が必要。

心陽虚脱証: 意識不明, 呼吸困難, 手足冷, 顔面蒼白, 冷汗, 脈微弱, 舌暗紫。

処方: 回陽救急湯加味。

配合生薬: 熟附子 9g, 党参 24g, 干姜 6g, 白術 12g, 甘草 12g, 桃仁 12g, 紅花 10g, 枳壳 15g 薬汁を鼻腔チューブを通して投薬する。

注: この漢方医学の証は西洋医学のショックに該当する。著者本人は数年前に上記の回陽救急湯で瀕死状態のインフルエンザ重症患者を救ったことがある。

●**回復期:**

脾肺气阴两虚証: 倦怠感, 汗出, 口乾, 食欲不振, 苔少あるいは苔薄少津, 脈細あるいは細数。 **処方:**

百合固金湯，清燥養榮湯加味。

配合生薬：百合 15g，麦冬 10g，貝母 10g，玄参 10g，桔梗 6g，甘草 6g，白芍 10g，当归 10g，生地 10g，熟地黄 10g，知母 6g，天花粉 15g，陳皮 10g，麦芽 10g，佩蘭 10g。

おわりに

中国の四川省，湖南省，貴州省は新型コロナウイルス感染症の発症地の武漢市と同じく冬場湿度が高いものの，発症人数および重症患者が圧倒的に少な

い。その理由の1つはこの3つの地域では山椒，唐辛子等を食べる習慣があることだと思う。本草学によると，山椒と唐辛子は散寒除湿の作用がある。「本草綱目」中に山椒について「花椒，純陽之物，散寒除湿，補右腎名門，止泄瀉」と記載している。そのため，山椒と唐辛子は発症原因である「湿邪」「寒邪」を除去することができる。新型コロナウイルス感染症の予防対策として，山椒と唐辛子などを多めに食べたほうが良いかもしれない。

参考文献

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, *et al.*: A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, *et al.*: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [published online ahead of print, 2020 Feb 3]. *Nature.* 2020; 10.1038/s41586-020-2012-7. doi:10.1038/s41586-020-2012-7
3. 新型冠状病毒肺炎診療方案 試行第五版 修正版 中国国家衛生健康委 2020 年 2 月 20 日
4. Chan JF, Yuan S, Kok KH, *et al.*: A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet.* 2020 Jan 24. pii: S0140-6736 (20): 30154-9. doi:10.1016/S0140-6736(20):30154-9.
5. Huang C, Wang Y, Li X, *et al.*: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020 Jan 24 pii:S0140-6736(20): 30183-5. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
6. Wang D, Hu B, Hu C, *et al.*: Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020 Feb 7. doi:10.1001/jama.2020.1585
7. Jia HP, Look DC, Shi L, *et al.*: ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol.* 2005;79(23):14614-14621. doi:10.1128/JVI.79.23.14614-14621.2005
8. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Krüger N, *et al.*: The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *bioRxiv* 2020.01.31.929042; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929042>
9. Guan W, Ni Z, Hu Y, *et al.*: Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *medRxiv* 2020. 02.06.20020974; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.06.20020974>
10. Yang Y, Lu Q, Liu M, *et al.*: Epidemiological and clinical features of the 2019 novel coronavirus outbreak in China. *medRxiv* 2020.02.10.20021675; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.10.20021675>
11. Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, *et al.*: Washington State 2019-nCoV Case Investigation Team. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med.* 2020 Jan 31. doi:10.1056/NEJMoa2001191.
12. http://www.gov.cn/xinwen/2020-02/06/content_5475092.htm
13. Wang M, Cao R, Zhang L, *et al.*: Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (SRAS-CoV-2) *in vitro*. *Cell Res.* 2020 Feb 4. doi:10.1038/s41422-020-0282-0.
14. <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js6170e/2.html>
15. <http://bgs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2020-02-06/12866.html>
16. 張伯礼，王琦，谷晓紅等，新型冠状病毒肺炎漢方医学診療ハンドブック，中国中医薬出版社，2020 年 2 月第 1 版 ISBN 978 - 7-89461-114-7

クロレラエキ스가豆腐味噌漬に与える影響

蒲池 加寿子 (KAMACHI Kazuko)¹

Key Words: クロレラエキス, 味噌漬, 豆腐, 発酵食品

目的と背景

クロレラは、コレステロール低下作用¹⁾、血圧低下作用²⁾、解毒作用^{3,4)}、生体防御機能調節作用^{5,6)}、緑黄色野菜代替作用などの生理作用が認められ、健康に良いとして半世紀以上も愛用されている健康食品である。

一方、一般食品としてのクロレラは、クロレラエキスの乳酸菌に対する増殖促進作用⁷⁾を利用して発酵乳製品に用いられたことにはじまり、その後クロレラエキスの食品の味を整える作用が明らかとなり、クロレラ粉末は葉緑素が高いことを利用して緑の色付けに用途が広がった。現在では、クロレラ粉末は「着色料」として、クロレラエキスは「調味料・製造用剤」として食品添加物リストに収載され一般食品にも広く使われている。

当社クロレラ工業(株)では、一般食品向としてクロレラ粉末をさらに緑の発色と利便性を高めるために微粉末化した「商品名:クロレラマイクロパウダー」があり、現在の健康志向にマッチした着色料として菓子類やパン、麺類、緑茶など幅広く使用されている。また最近では多種栄養素を補給できるジャパニーズスーパーフードとして着目されベジタリアンやヴィーガンレストランでも使用されるようになった。クロレラから熱水抽出されたクロレラエキスは塩もしくは砂糖で保存性を持たせた「商品名:フレボタイド(塩液)、フレボタイド(糖液)」があり、

パンや麺、肉類や菓子、飲料など多様な食品の品質改良・味覚向上剤として広く使用されている。

味噌は、日本の伝統的な食品の一つであり大豆や米、麦等の穀物に、塩と麴を加えて発酵させて作る発酵食品で日本人の食生活に欠かせない調味料である。長年の食経験から「医者いらず」と例えられるほどの健康増進効果は、多くの研究が進められ発酵熟成の過程で生理的ないくつもの機能性成分が生成されることが明らかとなり、様々な健康効果があることが立証されている。また、近年、世界の長寿国である日本の「和食」がブームとなり日常的に摂取する大豆食品が着目されているが、その中でも吸収の良いアグリコン型イソフラボン(ダイゼインなど)を割合的に多く含むとして味噌や醤油などの発酵食品が注目を集めている。豆腐のような未発酵大豆食品に含まれる大豆イソフラボンのほとんどは吸収されにくい配糖体で存在するが、味噌や醤油は発酵熟成過程に麴菌由来の酵素によって分解され吸収されやすいアグリコン型となりその食品の抗酸化性が増すことが報告⁸⁾されている。

味噌漬けは、味噌の塩分や残存する酵素などの働きを利用して作る肉や魚、野菜などの古くから伝わる伝統的な保存食品であり、それぞれの地方の気候や食習慣などに合わせた特色のあるものが存在している。

熊本の東南部に伝わる豆腐の味噌漬けは 800 年の

¹ クロレラ工業株式会社 R/D 部 クリエイト第2室
〒833-0056 福岡県筑後市久富1343
電話 0942(52)2191 email: kazuko_kamachi@chlorella.co.jp>

歴史をもち、水分の少ない「かずら豆腐」を使い半年ほど漬け込むことを特徴としており、その味は味噌由来の酵素によりタンパク質が分解されチーズのようなねっとりとした食感と旨味があるとされ⁹⁾、最近アグリコン型イソフラボンの一種ダイゼインが経時的に増加することが確認され¹⁰⁾ 注目を集めている。

これらのことから大豆食品である豆腐を味噌に漬け込むことで、味噌の発酵熟成過程と同様に漬けた豆腐にも機能性成分が生成されることが予想された。また豆腐の味噌漬けは材料が簡単に入手可能で自宅で手軽に調理できることや最近の食への健康志向とも合わせインターネットのレシピ検索サイトでも様々なレシピが多数掲載されている身近な調理食品となっている。

そこで本稿では、家庭でも容易に調理可能な豆腐の味噌漬けの発酵熟成過程における味やテクスチャー、大豆イソフラボンなどの機能的な成分にクロレラエキス（フレボタイド（塩液））が与える影響について調べたので報告する。

1. 豆腐味噌漬けの調製

豆腐と味噌は、市販のものを使用した。豆腐は木綿豆腐を用い、味噌は、酵素活性を抑制する酒精無添加で麴歩合は不明であるが麴の割合が多い甘口の合わせ味噌を用いた。クロレラエキスは弊社製品フレボタイド（塩液）を使用した。

対照区の味噌漬けは、豆腐（1丁：約350g）に均等に重石（500g）のをせ1晩冷蔵庫中で水切りした後4等分（約75g）しキムワイプで包み、同じ重量の味噌を全体に満遍なく均等な厚みになるよう塗布しラップで包み4℃の冷蔵庫に6週間静置した。

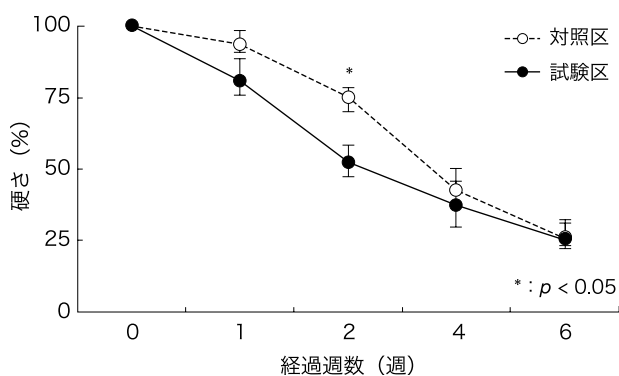


図1 味噌に漬けた豆腐の硬さの変化

試験区は、フレボタイドを味噌の重量に対して1.0%混ぜ込んだものを対照区と同様に水切りした豆腐全体に塗布した。試料の採取は、1, 2, 4, 6週間後に行った。対照区、試験区とそれぞれ3回調製した。採取した豆腐味噌漬は、塗布した味噌を取り除き試料中の味噌の混入を避けるため豆腐の表面約1mmをカットしてそのまま官能評価とテクスチャー解析を行い、遊離アミノ酸や、イソフラボンなどの抗酸化成分の測定には凍結乾燥したものを試料とした。

酵素活性は、試料採取で取り除いた味噌を試料とした。

2. 味および食感に与える影響

2-1. テクスチャー

食感の変化をみるためにテクスチャーを測定した。テクスチャー解析には、塗布した味噌を取り除いたものを試料とした。測定には、クリープメーター（RE2-33005S 山電（株）製）を用い、試料は厚さ約20mm、条件はプランジャーは直径8mmの円筒形、歪率60%、速度は1mm/sとした。結果は「硬さ」を比較し、硬さの程度は味噌に漬ける前の水切り豆腐に対する百分率で表した。味噌漬けした豆腐は、対照区、試験区のどちらも漬け込み日数の経過に伴い「硬さ」が減少し、2週間後には、漬ける前の水切り豆腐の硬さに対して対照区では75%、試験区では52%となり有意差が($p < 0.05$)見られた(図1)。

2-2. 官能評価

テクスチャー解析試料と同じく塗布した味噌を取り除き、対照区を基準資料として官能評価を実施した。評価は、「やわらかさ」「好ましさ」「なめらかさ」「チーズ様の味の強さ」「塩辛さ」の5項目とした。基準試料を0とし、正の評価を「やわらかい」「好ましい」「なめらかである」「チーズ様の味が強い」「塩辛くない」とし、負の評価を「硬い」「好ましくない」「なめらかでない」「チーズ様の味が弱い」「塩辛い」とする5段階評点法で評価した。パネルは社内の5名とした。テクスチャー解析では硬さの減少をみることができたが、官能評価で味わってみると経時的な硬さの減少に加え漬ける前にはない独特のチーズのようなクリーミーな食感が生じておりそれが評価項目の「やわらかさ」と「なめらかさ」、「チーズ様

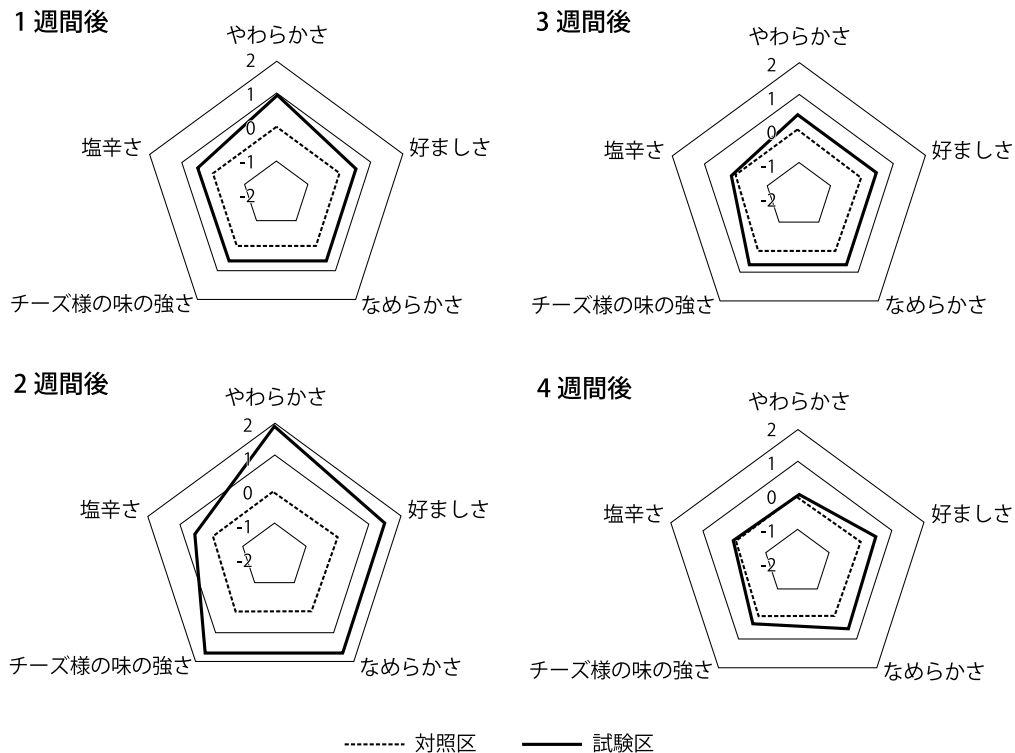


図2 味噌に漬けた豆腐の官能評価

の味の強さ」として評価された。実験期間を通して試験区の評価が高く特に2週間後での差が大きかった（図2）。2週間後の対照区は豆腐の味とカタさがまだ残っていたが、試験区ではクリームチーズのようなねっとりした食感と酸味や旨味が感じられ差が歴然としていた。また、評価項目にはないが試験区の4週間後から甘いアルコールのような香りがわずかに感じられるようになった。

この結果は、テクスチャーの「かたさ」を反映しておりフレボタイドを添加した味噌漬けの方が硬さの減少とクリーミーな食感の増加が早く始まっていることを表していると考えられた。

2-3. pH

塗布した味噌を取り除いた豆腐 10g に水 50mL を加えてホモジナイズし濾過した後、その濾液の pH を測定した。pH は、味噌に漬ける前の水切り豆腐では 6.02 であり漬け込み日数の経過に伴って低下し、1週間後には対照区 5.81、試験区 5.77 となり、試験区が低めの傾向を示しながら6週間後にはどちらも 5.70 となった（図3）。

2-4. 有機酸量

味噌は、麴由来の酵素と乳酸菌および酵母によっ

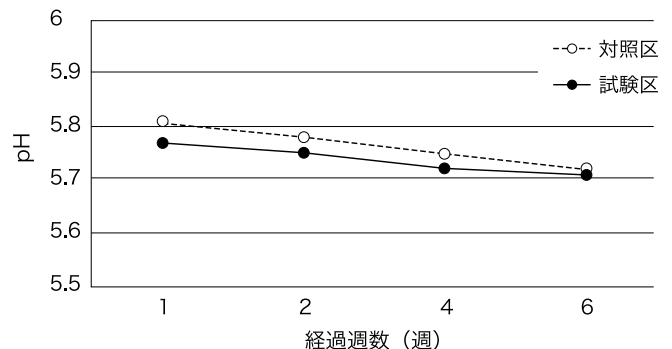


図3 味噌に漬けた豆腐の pH の変化

て発酵熟成されその過程でおこる pH の低下はアミノ酸や有機酸の生成を示すとされる。そこで豆腐の味噌漬けの pH の低下の要因を探るため有機酸量を測定した。測定は、凍結乾燥したものを試料とした。

試料 0.5g に水 20mL 加えて懸濁した液を 0.1M 水酸化ナトリウムで pH が 8.2 になるまで滴定した。有機酸は乳酸換算とした。有機酸量は漬け込み日数の経過に伴い増加し、pH の低下とほぼ連動していた。1週間後には 100g あたり対照区が 227mg、試験区が 243mg と早い段階から試験区の方が多くなっており実験期間を通して高めの傾向を示した。特に2週間後と6週間後では対照区 233mg、265mg 試験区では 252mg、284mg となり有意差 ($p < 0.05$)

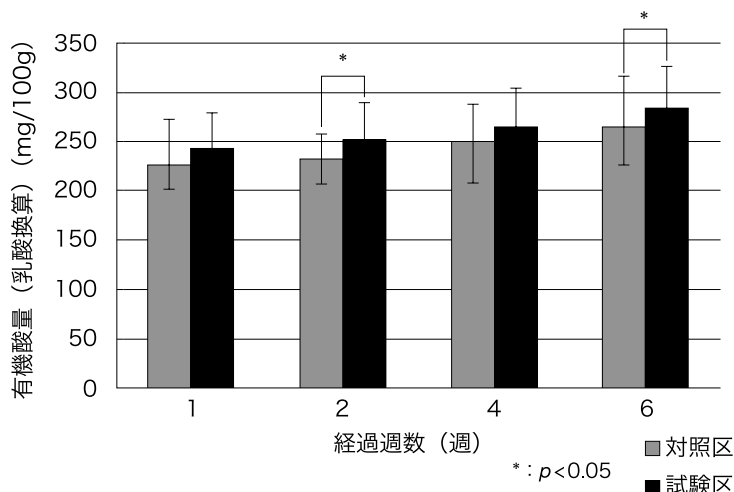


図4 味噌に漬けた豆腐の有機酸量の変化 (乳酸換算)

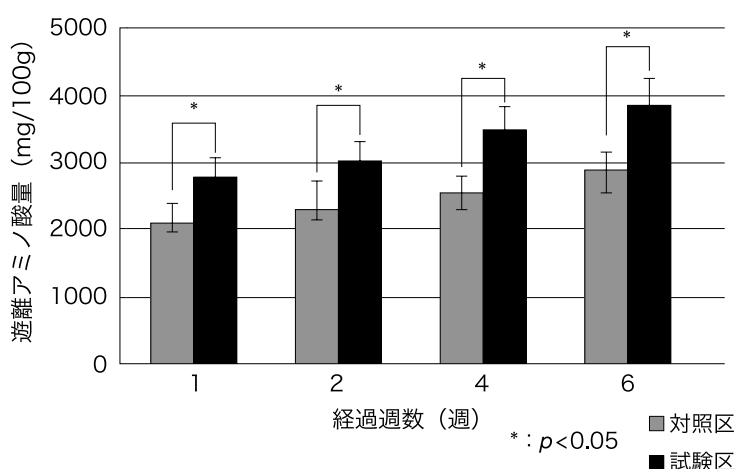


図5 味噌に漬けた豆腐の遊離アミノ酸量の変化

が見られた (図4)。

クロレラエキスには、乳酸菌と酵母に対する増殖および生育促進効果^{7, 11-13)}が古くから認められている。味噌は、麹由来の酵素、乳酸菌や酵母などの微生物によってデンプンやタンパク質が分解され、できたブドウ糖を栄養源として乳酸菌が増殖し味噌のpHが下がり酵母が生育しやすい状態となり発酵熟成が進行するとされている。

これらのことから、豆腐味噌漬のpH低下の要因の1つは有機酸の生成によるものであり、試験区の

有機酸の有意な増加はクロレラエキス (フレボタイド) の乳酸菌や酵母に対する増殖および生育促進効果によってもたらされたと考えられた。

2-5. 遊離アミノ酸量および組成

豆腐味噌漬の味と柔らかさの主因は、麹菌由来の酵素によるタンパク質の分解および低分子化によるものとされている⁹⁾。そこで遊離アミノ酸量とその組成を測定した。測定には、凍結乾燥したものを試料とした。試料1gに水約10mL加えホモジナイズした後、洗液を加え合わせて25mLとし、5000rpmで20分間遠心分離を行い上清のタンパク質を除去した後、PTC-アミノ酸誘導体化法にて遊離アミノ酸総量およびその組成を測定した。遊離アミノ酸量遊離アミノ酸量は、漬け込み日数の経過に伴い増加していた。1週間後には100gあたり対照区2120mg、試験区2771mgと試験区の方が約3割増量し、その後も6週間後まで遊離アミノ酸量が有意($p<0.05$)に増加していた (図5)。

この結果から、フレボタイドを加えた試験区ではタンパク質の分解が早く進行し遊離アミノ酸が有意に増加したことがテクスチャーの硬さの減少とクリーミーな食感の増加が早く始まる要因と考えられた。呈味別にみたアミノ酸組成遊離アミノ酸には、それぞれ味があり「旨味系」、「甘味系」、「苦味系」の3つに分けることができその組成が豆腐味噌漬の味に影響すると考えられた (表1)。そこで結果を個々のアミノ酸の味3種類に区分し、旨味系アミノ酸と甘味系アミノ酸を合わせて比較した。

その結果、漬け込み日数の経過に伴いアミノ酸組成比が変化し、旨味系と甘味系アミノ酸の含有

表1 各遊離アミノ酸の味

旨味系	甘味系		苦味系	
アスパラギン酸	アラニン	スレオニン	アルギニン	フェニルアラニン
グルタミン酸	グリシン	アスパラギン	ヒスチジン	バリン
	プロリン	グルタミン	イソロイシン	チロシン
	セリン		ロイシン	シスチン
			リジン	トリプトファン
			メチオニン	

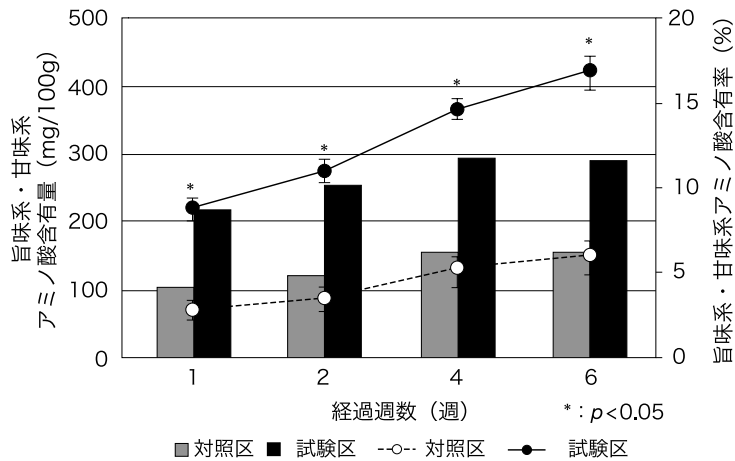


図6 味噌に漬けた豆腐の旨味系・甘味系アミノ酸の含有量と含有率の変化

率が高くなる傾向がみられた (図6)。対照区では1週間後の含有率は4.2%で含有量は100gあたり70.3mg, 8週間後6.2%で152mgに対して, 試験区では1週間後に8.7%, 222mg, 8週間後に11.9%, 425mgとなり実験期間をとおして有意差 ($p < 0.05$) が見られた (図6)。この結果から, 試験区の豆腐は, 旨味と甘味が強く豆腐味噌漬としての味が強くなっていると推測された。

2-6. プロテアーゼ活性

塗布した味噌の中性 (pH6.0) プロテアーゼ活性と酸性 (pH3.0) プロテアーゼ活性を測定した。試料は, 試料採取時に取り除いた味噌と等重量の水を加えて乳鉢ですりつぶし遠心分離により上清と沈殿を分けた。沈殿にはさらに水を加えて懸濁し再度遠心分離した。上清は集めて定容, ろ過を行いそのろ液を一晩透析し酵素抽出液とした。中性および酸性プロテアーゼ活性の測定は, 基準みそ分析法に示された方法を元に酵素反応時間を10分から60分

間に改変し測定した。すなわち, 1.5% ミルクカゼイン溶液 (pH6.0 または 3.0) を基質として 30℃で 60 分間反応させた後にトリクロロ酢酸可溶部にフェノール試薬を加え発色させ, その OD660nm 値からチロシンの生成量を求めプロテアーゼ活性を算出し, 漬け込み開始時の味噌の酵素活性を 100% とし残存率として表した。

その結果, 残存プロテアーゼ活性は, 実験区間での差はほとんどなく酸性・中性どちらにおいても実験期間中に大きな活性の低下はみられなかった (表2)。しかしながら先述の遊離アミノ酸量では試験区の方が

含有量が多く実験期間を通して有意差がみられた。味噌に残存する麹菌由来の酸性, 中性プロテアーゼの安定性が高い¹⁴⁾ ことは複数報告されておりそれらの結果と一致した。また, 味噌の麹菌に由来するプロテアーゼは, 単独ではたんぱく質からアミノ酸の直接生成はほとんどなく, ペプチダーゼがプロテアーゼの生成したペプチドに作用してアミノ酸を生成するという報告¹⁵⁾ がある。これらのことからフレボタイドの添加により遊離アミノ酸を生成する酵素活性 (ペプチダーゼ) の阻害が軽減された可能性が示唆された。

3. 機能性成分に与える影響

大豆の発酵食品は, 発酵熟成の過程で優れた生理的な機能性成分を多数生成することが明らかになっている¹⁶⁾。その中の味噌においては食品機能特性の一つに強力な抗酸化作用が挙げられ, その抗酸化物質としてはサポニン, イソフラボン, メラノイジン, トコフェロール, ペプチド, 2,3-ジヒドロ安息香酸, 8-ヒドロキシダイゼイン, 8-ヒドロキシゲニステイン等が総合的な作用で強い活性を示すとされている¹⁷⁾。そこで豆腐の味噌漬の発酵熟成の過程で生じると推定される抗酸化成分アグリコン型イソフラボン (ダイゼイン, ゲニステイン) とメラノイジンの含有量および経時変化とその抗酸化活性を測定した。また, アグリコン型イソフラボンは酵素分解による生成物であるため塗布した味噌の β -グルコシダーゼ活性についても測定した。

表2 味噌のプロテアーゼ活性の残存率

	冷蔵味噌			
	酸性プロテアーゼ (pH3.0) (%)		中性プロテアーゼ (pH6.0) (%)	
	対照区	試験区	対照区	試験区
0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	95.0	93.4	95.0	95.2
2	95.3	95.0	95.2	94.6
4	94.8	95.5	94.5	95.2
6	99.5	97.6	94.8	95.9
8	99.4	98.5	97.2	97.9

3-1. 大豆イソフラボンの定量

大豆イソフラボンは、未発酵では吸収されにくい配糖体であるが、発酵過程で麹由来の β -グルコシダーゼによる加水分解によって吸収されやすいアグリコン型を生成するとされている。そこで配糖体型イソフラボンのダイジン、ゲニスチン、グリシチンとそのアグリコン型イソフラボンであるダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの定量分析を行った。測定には、凍結乾燥したものを試料とした。

イソフラボンの測定は、農研機構による AOAC 改良測定法¹⁸⁾を用いた。すなわち、約 500mg 精秤した試料に 80% メタノール 16mL を加え 65°C で 2 時間抽出した。抽出液は水酸化ナトリウムでケン化処理した後、酢酸で中和、定容しその抽出液の一部を遠心分離し上清を HPLC 分析に供した。HPLC 分析は、Agilent Technologies1220 を使い、カラムは TSKgel ODS-80Ts 内径 4.6×160mm (TOSOH) を使用した。操作条件は、試料導入力 10 μ L、流速 1mL/

分、カラム温度 25°C、検出器 260nm、10～50% アセトニトリル/3% メタノール、0.5% 酢酸のグラジェント溶出とした。標準品は、ダイジン、ゲニスチン、グリシチンおよびダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインを使用した。

結果のグラフは、それぞれの配糖体型イソフラボンとそのアグリコン型イソフラボンの減少と増加の経時変化を表した。グリシチンとグリシテインはアグリコン型が微量で一部追跡できない部分があるため割愛した。実験期間を通して漬け込み日数の経過に伴い配糖体型イソフラボンが減少しアグリコン型イソフラボンが増加した(図 7, 図 8)。

ダイゼインは、実験期間中増え続け、対照区で 100g あたり 1 週間後 8.7mg, 2 週間後 11.6mg, 4 週間後 14.0mg, 6 週間後 17.5mg, 一方試験区では 10.2mg, 13.1mg, 16.6mg, 17.2mg と漬け込み 4 週間後まで高めの傾向となり、とくに 4 週間後においては有意差 ($p<0.05$) がみられた。

ゲニステインは、実験期間中増え続け、対照区で 100g あたり 1 週間後 11.9mg, 2 週間後 14.7mg, 4 週間後 17.5mg となり、一方試験区では 12.3mg, 15.4mg, 18.2mg と有意差はみられなかったが実験期間を通して高めの傾向となった(図 8)。実験期間を通してフレボタイドを添加した試験区の方がアグリコン型イソフラボン(ダイゼイン、ゲニステイン)量が多かった。

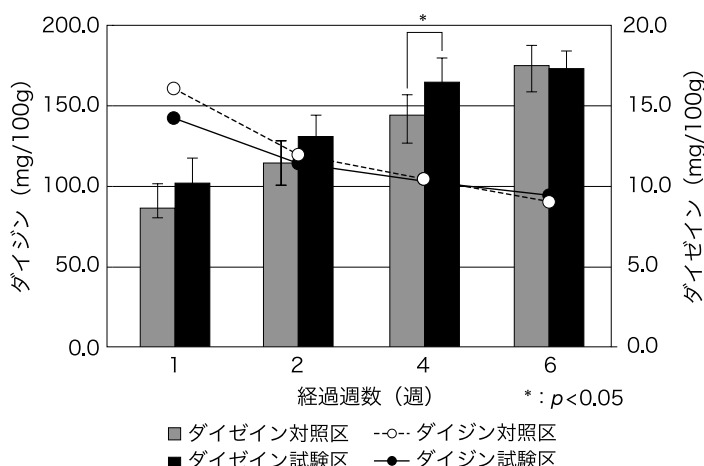


図 7 味噌に漬けた豆腐のダイジンとダイゼインの経時変化

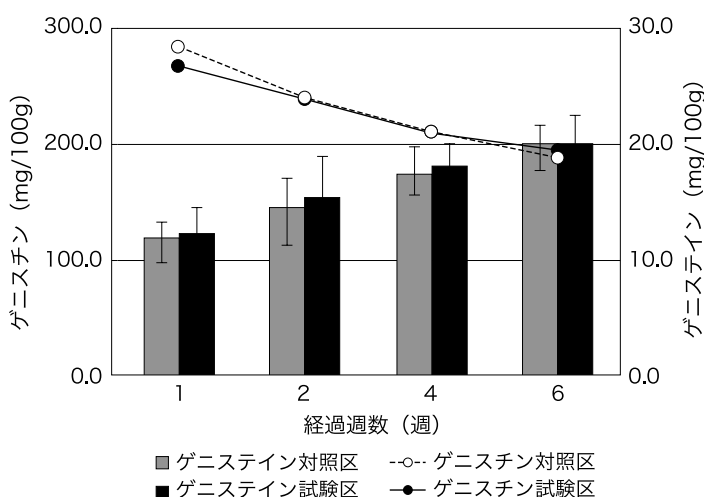


図 8 味噌に漬けた豆腐のゲニスチンとゲニステインの経時変化

3-2. β -グルコシダーゼ活性

塗布した味噌の β -グルコシダーゼ活性⁸⁾を測定した。試料採取時に取り除いた味噌 20g を採取し、乳鉢で磨砕した後、水 200mL を加えて 2 時間抽出を行い遠心分離後、上清を一晩透析し酵素抽出液とした。基質 0.024M *p*-ニトロフェニル- β -D-グルコピラノシド 0.025mL, 0.2M 酢酸緩衝液 (pH4.5) 0.5mL, 酵素抽出液 0.25mL の混合液を 40°C で一定時間インキュベーションした後、0.1mL をとり 0.1M 炭酸ナトリウム 4.9mL を添加して反応を停止させた後、反応で生成された *p*-ニトロフェノールの吸光度 (400nm) を測定した。結果は、漬け込み開始時の味噌の酵素活性を 100% とし残存率として表した。対照区では、

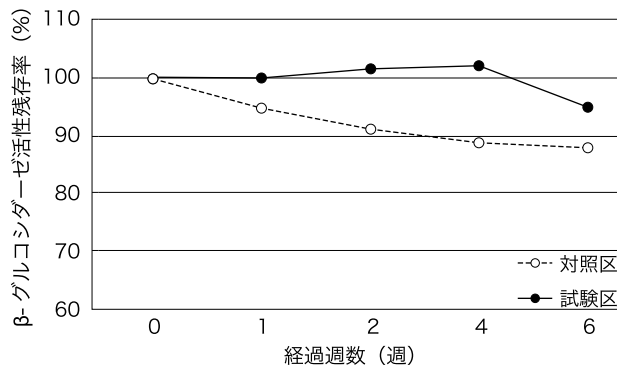


図9 味噌のβ-グルコシダーゼ活性の残存率

1週間後には活性残存率95%となり6週間後には88%と徐々に低下した。試験区では、4週間後まで活性を維持していたがそれ以降わずかに下がり6週間後には活性残存率95%となった(図9)。

フレボタイドを添加した味噌のβ-グルコシダーゼ活性は無添加味噌より長く維持されていたが4週間以降わずかに下がり始めた。β-グルコシダーゼは、配糖体型イソフラボン加水分解時の副産物グルコースによって活性阻害がおこることが明らかになっている。先述(2-4. 有機酸量)にもあるようにフレボタイドを添加した味噌は、クロレラエキスの乳酸菌と酵母に対する増殖および生育促進効果^{7, 11-13)}によって良好な環境となっていると推測されその結果、発酵が促進され糖の要求を高めた酵母が加水分解時に生成されたグルコースを取り込むことでβ-グルコシダーゼ活性阻害を抑制したと考えられた。また4週間以降見られ始めた活性の低下は発酵で生成したアルコールによって酵母が弱まりグルコースが蓄積した可能性が要因だと考えられた。また、アグリコン型イソフラボンの増加とのずれは見られるが生成速度が緩慢になった要因として活性の低下が影響していることが示唆された。

3-3. メラノイジン

メラノイジンは、経時的に濃くなる味噌の着色成分であり、メイラード反応生成物からなる高分子化合物と定義され、抗酸化活性、抗変異原性、食物繊維類似の作用など様々な機能を有することが知られている。メラノイジン生成量の経時変化を調べた。測定は、凍結乾燥したものを試料とした。試料0.5gを水で10mLに定容したあと、遠心分離を行い上清の吸光度(410nm)を測定した。結果は、410nmで表した(図10)。2週間後から6週間後まで試験区

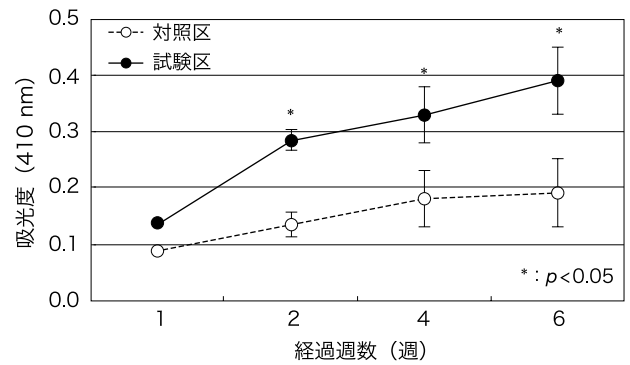


図10 味噌に漬けた豆腐のメラノイジンの変化

の方が高い数値を示し有意差($p < 0.05$)がみられた(図10)。メラノイジンは糖とアミノ酸の反応物質であり、ある味噌メーカーでは味噌の仕込み時にプロテアーゼを添加し生成に必要なアミノ酸、ペプチドを効率よく増やして高抗酸化活性味噌を製造する方法¹⁹⁾を提案している。

これらのことから、試験区は遊離アミノ酸量が1週間後から実験期間を通して有意に高かったことで効率よくメラノイジンが生成された可能性が考えられた。

3-4. 抗酸化活性

測定は、凍結乾燥したものを試料とした。抗酸化活性は、対象とするラジカルや測定方法などで数値が大きく異なることがあるためDPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカル消去活性とSOD様活性との2種類を測定した。DPPHラジカル消去活性は、約500mg精秤した試料に80%メタノールを10mL加え65°Cで2時間抽出した後、遠心分離しその上清をDPPH Antioxidant Assay Kit(株同仁化学研究所)を用いてそのプロトコールに従って測定した。結果は、DPPHラジカル消去率50%を示すサンプル濃度である IC_{50} (%)を求め、Troloxの IC_{50} (%)を基準として換算した試料100mLあたりのラジカル消去活性をTrolox当量($\mu\text{mol TE}$)として示した。

SOD様活性は、試料の抽出および前処理はDPPHラジカル消去活性測定試料と同様に行いSOD Assay Kit-WST(株同仁化学研究所)を用いてそのプロトコールに従って測定した。

DPPHラジカル消去活性

対照区では100gあたり1週間後に67 $\mu\text{mol TE}$ 、2週間後に102 $\mu\text{mol TE}$ 、4週間後に138 $\mu\text{mol TE}$ 、6週間後に146 $\mu\text{mol TE}$ となったのに対して、試験区

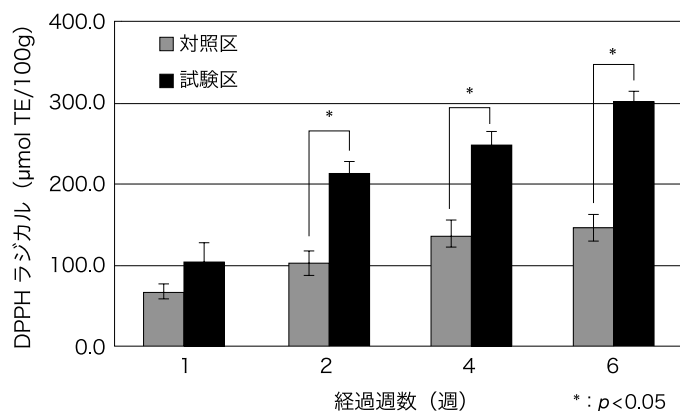


図 11 味噌に漬けた豆腐の DPPH ラジカル消去活性の変化

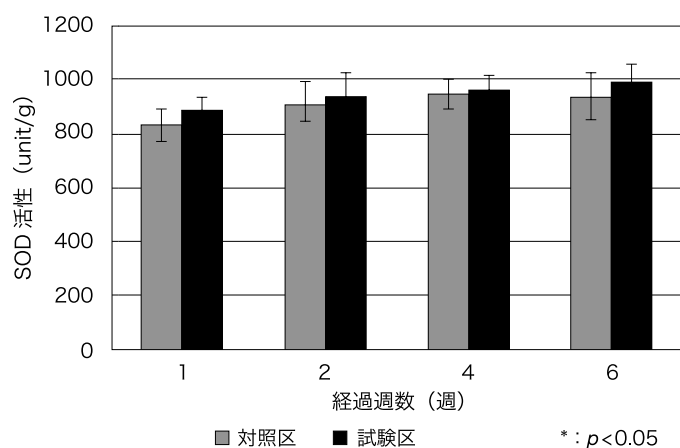


図 12 味噌に漬けた豆腐の SOD 消去活性の変化

では、105μmolTE、215μmolTE、250μmolTE と高くなり 6 週間後には 302μmolTE と実験期間を通して高い活性を示し 1 週間後以外は有意差 ($p < 0.05$) が見られた (図 11)。

SOD 様活性

SOD 様活性を示す抗酸化成分は、実験期間を通して高くなった。1 週間後から 6 週間後まで対照区では 827 ~ 942unit/g に対して試験区は 885 ~ 1020

unit/g と有意差はみられなかったが高めの活性で推移した (図 12)。

3-5. 抗酸化成分と抗酸化活性の相関性

先述の抗酸化活性では、DPPH ラジカル消去活性が試験区の 2 週間後から 6 週間後で有意に活性が高く、SOD 様活性では有意差はみられなかった。そこで、その要因を探るため抗酸化成分量と抗酸化活性の相関性を調べた。

メラノイジンと酵素活性の相関性

DPPH ラジカル消去活性においては、イソフラボン特にアグリコン型の 1 種ゲニステインでは極めて反応が低く化合物によって差異があるとの報告²⁰⁾や味噌の褐色色素メラノイジンの量やその関連物質に大きく影響される^{17,21)}との報告がある。そこでメラノイジンと DPPH ラジカル消去活性と SOD 様活性それぞれの相関性を調べた。

メラノイジンと DPPH 消去活性は、相関係数 0.89 で強い正の相関がみられ、メラノイジン量の有意な差が DPPH ラジカル消去活性の結果に反映されていることが示唆された (図 13 ①)。

メラノイジンと SOD 様活性の相関係数は 0.68 で正の相関がみられた (図 13 ②)。このことから、SOD 様活性においてはメラノイジン量に加えてほかの抗酸化成分の影響を受けていると考えられた。

アグリコン型イソフラボンと酵素活性の相関性

アグリコン型イソフラボンと DPPH ラジカル消去活性、アグリコン型イソフラボンと SOD 様活性の相関性を調べた。アグリコン型イソフラボンは、

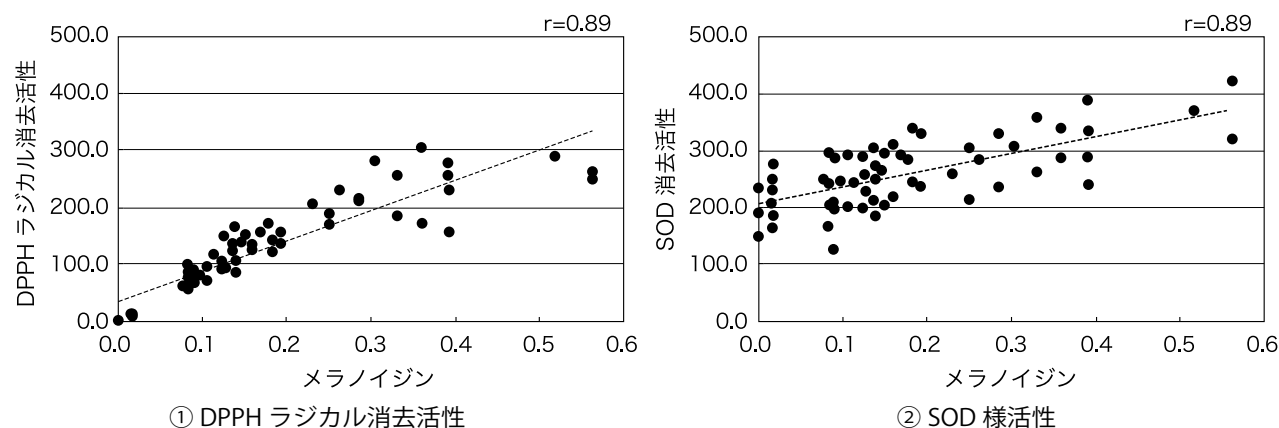


図 13 メラノイジンと酵素活性の相関性

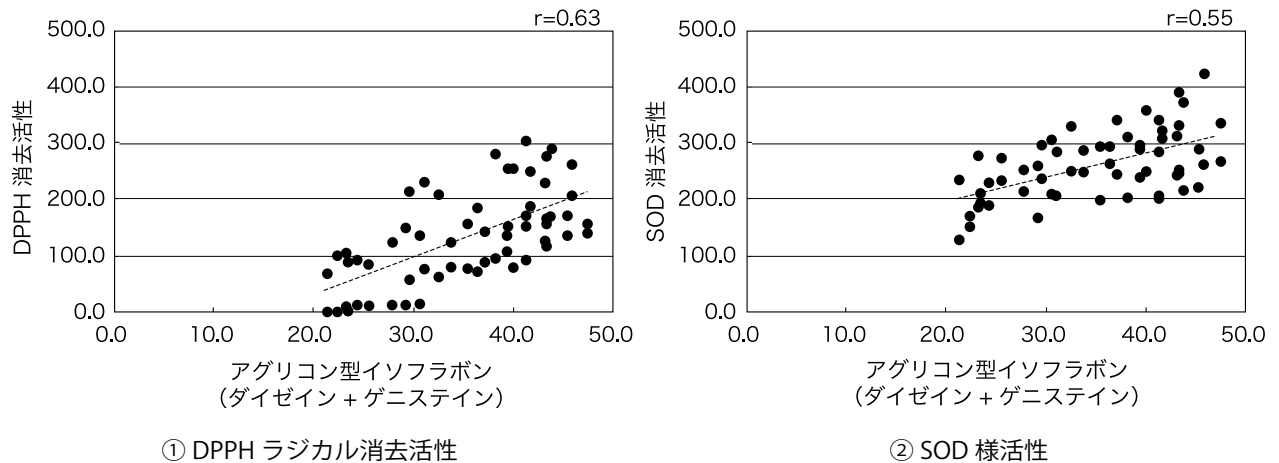


図 14 アグリコン型イソフラボンと酵素活性の相関性

ダイゼインとゲニステインを合わせた量とした。

アグリコン型イソフラボンと DPPH ラジカル消去活性の相関係数は 0.63, SOD 様活性との相関係数は 0.55 でどちらもで正の相関がみられた (図 14 ①, ②)。このことから, DPPH ラジカル消去活性, SOD 様活性どちらにおいてもアグリコン型イソフラボン量に加えてほかの抗酸化成分の影響を受けていると考えられた。

4. 要約

フレボタイドを添加した味噌と無添加の味噌を使った豆腐の味噌漬けの比較試験を行った。味噌は、麴の割合が多いとされる甘口味噌に豆腐を漬け込み、その過程における味やテクスチャー, 抗酸化成分, 抗酸化活性などを測定しフレボタイドが豆腐の味噌漬けに与える影響を検討した。結果は次のとおりである。

- ・フレボタイドを添加した豆腐の味噌漬けは、無添加に比べて漬け込みが短期間でやわらかくクリーミーなチーズ様の味と食感となり官能評価も高評であった。
- ・味噌は、麴由来の残存酵素と乳酸菌, 酵母などにより発酵熟成が進んでいくが、フレボタイドを添加した豆腐の味噌漬けの有機酸量が有意に増えていたことはクロレラエキスの乳酸菌と酵母に対する増殖および生育促進効果によるものと推測された。

- ・フレボタイドを添加した味噌に漬けた豆腐の遊離アミノ酸やアグリコン型イソフラボンなどの酵素分解によって生成される成分が短期間で有意に増えた。
- ・抗酸化力の強いメラノイジンもフレボタイドを添加した味噌に漬けた豆腐では有意に増え, メラノイジンと相関性の強い DPPH ラジカル消去活性も有意に高かった。

この試験では、豆腐の味噌漬けの発酵熟成過程において経時的に遊離アミノ酸やアグリコン型イソフラボン, メラノイジンなどの抗酸化成分が生成されることが確認でき、フレボタイドを添加した味噌に漬けた豆腐の方が有意に増えた成分が多かった。有意に増えた成分は、酵素が関与している成分で遊離アミノ酸やアグリコン型イソフラボン, 非酵素反応により生成される成分メラノイジンであった。このことはフレボタイド (クロレラエキス) が直接働きかけたのではなくクロレラエキスの乳酸菌と酵母に対する増殖および生育促進効果が発揮されたことが起因となり相乗効果を生み出したと考えられた。本試験では、クロレラエキスを添加するだけで、より抗酸化性の強い豆腐の味噌漬けを調理できることがわかった。

今後も、毎日の食生活の中で、クロレラエキスを使った食品で健康づくりに役立つ提案をしていきたいと考えている。

参考文献

1. 藤原洋子, 平川敬三, 新保國広: 高脂血症患者に及ぼすクロレラ長期投与の影響, 日本栄養・食糧学会誌, **43**(3): 167-173, 1990.
2. 宮脇真理子, 他: Chlorella (筑後産) に関する研究 (第4報) - とくに血圧症例に対して - 基礎と臨床, **14**(12): 191-200, 1980.
3. K. Morita, T. Matsuda, T. Iida, *et al.*: Chlorella accelerates dioxin excretion in rats. *Journal of Nutrition* **129**(9): 1731-1736, 1999.
4. T. Uchikawa, A. Yasutake, Y. Kumamoto, *et al.*: The influence of *Parachlorella beyerinckii* CK-5 on the absorption and excretion of methylmercury (MeHg) in mice. *J. Toxicological Science*, **35**(1): 101-105, 2010.
5. K. Tanaka, Y. Tomita, M. Tsuruta, *et al.*: Oral administration of *Chlorella vulgaris* augments concomitant antitumor immunity. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **12**(2): 277-291, 1990.
6. T. Hasegawa, Y. Kimura, K. Hiromatsu, *et al.*: Effect of hot water extract of *Chlorella vulgaris* on cytokine expression patterns in mice with murine acquired immunodeficiency syndrome after infection with *Listeria monocytogenes*. *Immunopharmacology*, **35**: 273-282, 1997.
7. 代田稔, 遠藤寛, 小沢一水: クロレラの暗所タンク純粋培養とクロレラの乳酸菌生育促進作用について, *New Food Industry* **7**(9): 1-6, 1965.
8. 池田稜子, 太田直一, 渡辺忠雄: 大豆発酵過程における抗酸化性物質イソフラボンの変化, 日本食品科学工学, **42**(5): 322-327, 1995.
9. 舟木純子, 矢野みどり, 早瀬仁美 他: 豆腐味噌漬の熟成過程におけるタンパク質の分解, 日本食品化学工学会誌 **43**(5): 546-551, 1996.
10. 食品化学新聞: ダイゼインが経時的に増加 - 熊本高専の弓原教授ら - 豆腐の味噌漬け試験で見出す, 2018年6月21日, 8面掲載
11. 菅野敏博, 新保國弘, 政田正弘, 田村五郎: クロレラ熱水抽出物由来の酵母に対する生育促進物質, 生物工学会誌, **74**(3): 159-162, 1996.
12. 高田英夫: クロレラ - その本性と応用, 阿字万字館, 129-131, 1977.
13. 満田久輝, 鹿内健彦, 吉田耕一: クロレラの食糧化に関する研究 (第6報), 栄養と食糧, **14**(6): 28-34, 1961.
14. 伊藤清枝: 味噌に残留する酵素の特性とその活用について, 醸協, **83**(4): 223-229, 1988.
15. 中台忠信: 日本醤油研究所雑誌, **11**: 67, 1985.
16. 中村好志, 江崎秀男: 食品の機能性と発酵による変化 - 黒茶と大豆食品を例に -, 醸協, **108**(1): 16-24, 2013.
17. 竹内徳男, 稲荷妙子, 森本仁美, 毛利光之: 味噌の DPPH ラジカル補足能に関する研究, 岐阜女子大学紀要, 第33号, 115-122, 2004. 3.
18. 渡辺純: 大豆イソフラボン分析法, 農研機構, 1-7, 2014.
19. マルコメ株式会社, 高抗酸化活性味噌の製造方法, 特開 2006-333776
20. 山田潤, 赤堀雄介, 松田秀喜, 他: 鰹だしおよび各種だしにおける DPPH ラジカル消去活性と ORAC 値の相関性の検討, 日本調理科学会誌, **43**(3): 201-205, 2010.
21. 下橋淳子, 西山一朗: 味噌の色調と抗酸化の関係, 日本食生活学会誌 Vol.19 NO.3: 2008. (57) 247-250 (60)

クロレラの専門メーカー、 クロレラ工業。

国内の自社工場で高品質のクロレラ製品を一貫生産しています。



クロレラ培養プール(九州筑後工場)

地球上の命の原点として存在してきたクロレラ。

環境汚染の進む今、クロレラは動物・植物をはじめ

すべての生物の健康を支える〈命の源〉として大きな注目を集めています。

1964年、当社は「クロレラの大量培養」に世界で初めて成功。

以来、自社工場で原料づくりから商品化までを一貫して行なう唯一のクロレラ専門メーカーとして、
高品質の裏付けとなる600例を超える研究成果を医学・薬学・栄養学の各学会に発表するなど
半世紀に亘り、徹底した品質と高度な技術で常に価値あるクロレラだけを生産しています。

クロレラ工業株式会社

本社：東京都港区浜松町1-18-16 TEL.03(3437)0901(代)
工場・研究所：福岡県筑後市久富1343 TEL.0942(52)2191(代)

新解説

グルテンフリー食品への米の利用 (1)

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1, 2}

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

Key Words：グルテンフリー 米の利用

本論文「新解説 グルテンフリー食品への米の利用 (1)」は “Gluten-Free Cereal Products and Beverages” (Edited by E. K. Arendt and F. D. Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER) の第 4 章 Rice by Crisina M. Rosell and Cristina Marco の一部を翻訳紹介するものである。

紹介

米は人々の食生活にとって最も重要な食品の 1 つであり、歴史上、最も普及した収獲穀物の 1 つである (全栽培土壌の 9%)。事実、他の収獲物に比べ、より多くの人々の食物であり、今日まで米は世界の人々の 2/3、ほぼ 25 億人の食物として支えてきた。しかし、国によって米は食品への寄与の仕方が多種多様であり、加工されるタイプも実にいろいろである。米は主に白米として消費されるが、この 10 数年間は、その成分として含む数十の食品がマーケットに現れている。米は *Oryza sativa* と *Oryza glaberrima* の異なった 2 種の品種が栽培されているが、その他に約 22 種の野生種がある。*Oryza sativa* はアジアの熱帯湿地に原生していたが、現在では世界中で栽培されている。一方、*Oryza glaberrima* はこの 3500 年間、西アフリカで栽培されてきた。

米は世界の全穀物生産の 29% に達し、小麦、コーンの生産と比較される。栽培は発展途上国に集中し、主には東部と中部アジア周縁が主で、そこでは全世界生産の 91% を占める (FAOSTAT, 2007) (図 4.1)。中国 (30%) は世界の最大の米生産国で、インド (21%)、インドネシア (9%)、バングラデッシュ (6%) と続く。アジア、アメリカ、アフリカの残った地域では、各々全世界の 37%, 5%, 3% の米生産をして

いる。米と米ベースの製品で人が利用する量は国によって違っているが、殆ど米生産量に対応している。僅かな例外を除いて、実際には米生産のすべては生産者の国内で消費される。毎日の食事の最大消費はミャンマーで見られ、795g/ 一人当たりである。アジアでの米の平均食事消費量は 285g/ 一人当たりで、先進国の消費量一人当たり米 44g を上回る。今日の 3 大消費モデルがある (Infocomm, 2007)；アジアモデルは平均年消費量一人当たり 80kg 以上；亜熱帯、発展途上国モデルは 30-60kg の間；西欧国モデルは 10kg 以下の消費である。この 10 年間、米消費量は発展途上国で次第に低下し、この傾向は新しい画期的な米ベースの食品の開発研究を促すものである。明らかに 2000 年には 400 以上の米を含む新しい製品がマーケットに現れ (Wilkinson and Champagne, 2004)、所謂、米消費増加のためにデザインされた新しい先鞭の結果である。

米は発展途上国で摂取される全エネルギーの 27% に相当し、それは発展国で消費される全エネルギーの僅か 4% である。他の穀物のように米は安価なタンパク質供給源であり、発展途上国で米は食事タンパク質の 20% を供給する。

米粒の成分は、生育する栽培地、環境要因、加工法に依存する。米は多様な条件下で栽培されるが、

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会会長, ³ 神戸女子短期大学

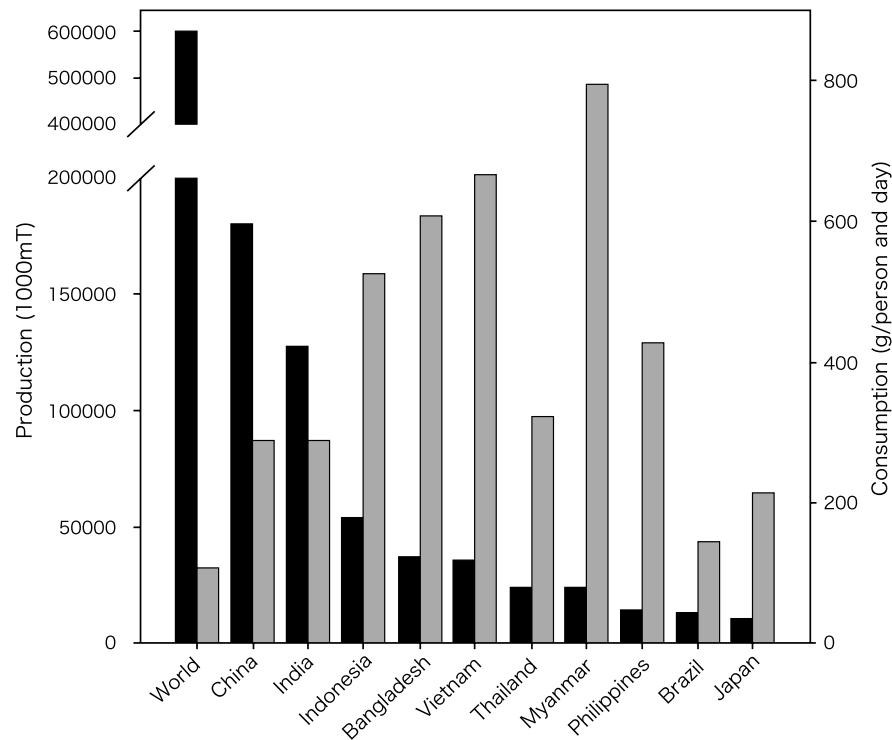


図 4.1 世界最大の米生産国間の水稻生産量（黒）と消費（灰色）
1 人、1 日当たりのグラム数を示す。データは FAOSTAT (2004) による。

表 4.1 米粒と米粉 (100g 当り) の米成分とエネルギー値

		もみ米	精米	全粒粉	白粉
Carbohydrates (%)		77.2	79.9	76.5	80.1
Proteins (%)		7.9	7.1	7.2	5.9
Dietetic fiber (%)		3.5	1.3	4.6	2.4
Lipids (%)		2.9	0.7	2.8	1.4
Minerals (%)		1.5	0.6	1.5	0.6
Lipids	Saturated (g)	0.6	0.7	2.8	1.4
	Monounsaturated (g)	1.1	0.2	1.0	0.4
	Polyunsaturated (g)	1.0	0.2	1.0	0.4
Minerals	Calcium (mg)	23.0	28.0	11.0	10.0
	Iron (mg)	1.5	0.8	2.0	0.4
	Magnesium (mg)	143.0	25.0	112.0	35.0
	Phosphorus (mg)	333.0	115.0	337.0	98.0
	Postasium (mg)	223.0	115.0	289.0	76.0
	Sodium (mg)	7.0	5.0	8.0	0.0
Vitamins	Vitamin E (mg)	1.2	0.1	1.2	0.1
	Vitamin K (mg)	1.9	0.1	-0.0	
	Thuamine (mg)	0.4	0.1	0.4	0.1
	Riboflavin (mg)	0.1	0.0	0.1	0.0
	Niacin (mg)	5.1	1.6	6.3	2.6
	Pyrudoxine (mg)	0.5	0.2	0.7	0.4
	Folate(μg)	20.	8.0	16.0	4.0
	Pantothenic acid (mg)	1.5	1.0	1.6	0.8

湿気、温暖環境下ではより早く生長する。米粒には短、中、長粒がある。それらは粘性、あるいはもち性、そして非もち性で、異なった色の品種があり、その中には黒から赤、茶色が含まれる；ある種には芳香さえある。殻を外した米粒は、粒を覆っている3種の果皮層の色により褐色である。米粒は、炭水化物複合体に富み、タンパク質、ミネラル、ビタミン源、主にビタミンB源であり、コレステロールは含まない(表4.1)。米粒の化学組成は製粉時に変化する。ふすま層の外側の除去は、タンパク質、脂質、多パーセントの繊維、ビタミン、ミネラルの損失原因となる。鉄、P、K、Mgはこの穀物の最も重要な金属である。外皮は粒の20%を占め、シリカとヘミセルロースからなる(Champagne *et al.*, 2004)。炭水化物は米の中に最も多い成分であり、そのうち約80%はデンプン(14%水分含量)である。

米デンプンはグルコースポリマーのアミロース、アミロペクチンからなり、米の種類によってその比較は異なる。米粒中のデンプンの含量は表面から中心に向かって増加し、そのため磨いた米(精米)はデンプンに富んでいる。米デンプンはアレルゲンでは無いと考えられているが、存在するのが低刺激性タンパク質のためである。デンプンは米粒の物理的性質、および機能性を決め、これらの性質は大きくアミロース/アミロペクチン比に依存する。アミロペクチンは枝のあるポリマーで、直線ポリマー(アミロース)より多い。しかしながら、アミロースは科学コミュニティーからより関心がもたれているのはその調理品質の指標と考えられるからである。米デンプンでは、アミロースを欠いたものを“waxy, もち”とよび、waxy座における突然変異のためにおこり、あるいはその不透明な様相から“glutinous”とよぶ。米デンプン構造、機能の性質に関する完全な情報が、最近Fitzgerald(2004)によってレビューされた。

タンパク質は2番目に多い精米中の成分で、6.3-7.1g(Nx5.95)である。タンパク質濃度は粒の外から内に向かって低下し、不可欠アミノ酸リジンに欠乏している。アルブミン、グロブリン、プロラミン、グルテリン含量が穀物中でユニークであり、グルテリンの高濃度とプロラミンの低濃度である(Hamaker, 1994)。他の穀物と比較した時、この特性はリジンの高含量を決めた。最も多い不可欠アミ

ノ酸は、グルタミン酸、アスパラギン酸、ロイシン、アルギニンで、続いてアラニン、バリン、フェニルアラニン、セリンである。脂質はあまり知られていない成分ではあるが、栄養的、感覚的、機械的特徴に寄与し、アミロース鎖と複合体を作る。米脂質はデンプン性と非デンプン性脂質に分けられる。脂質の大部分は非デンプン性脂質であり、アリューロン層と胚芽中に存在する中性脂質で、少量の糖脂質とリン脂質を含む。最近、ある脂質が、ガンや心臓病のようなクローン病の広がりにより米の役割と関係あるとされた(Watkins *et al.*, 1990)。

米粉生産とその性質

米粉生産

製粉

米は収穫され脱穀され、いわゆる水稻、もみ米で、そこでは粒は未だ殻あるいは外皮内にある。小麦に関しては、製粉とは米を作るのに一般に用いられる方法であり、米産業では製粉という言葉は加工ということの意味し、小麦製粉とは完全に異なる。小麦では製粉して粉を得るが、一方、米の製粉は殻の除去を意味し、内胚乳のふすまを除去し、最後には壊れて変形した穀粒の除去である。米の製粉は大きくその成分を変える。

先進国では、米の製粉は非常に洗練された加工法を含む。初めに水稻は米粒より大きなものを目の荒いスクリーンを通して、藁、石、他のゴミ、除いてきれいにする。このプロセスは、繰り返し、細かなスクリーンで小さな雑草の種子、砂、石、他の米粒より小さなものを除く。密度でものを分ける比重テーブルで、石と米を分ける。どんな金属粒子も磁石で分離する。この洗浄段階の後、ハスクは米を2段階の回転ゴムローラーを通して除去するが、それは異なったスピードで反対側に回転するローラーである(Bond, 2004)。玄米は皮を除いて得られる。このものはそのままでも食べられるし、搗精して白米にするかあるいは異なったものや副産物に加工して食べる。茶色はふすま層の存在によるため、それは鉄とビタミンに富む。

精米はまた、精白米として知られ、搗精米、あるいは白米としても知られる、玄米からふすまと胚芽を除去して得られる。搗精米用の多くの機械、方法があるが、しかし時には摩擦と研磨のシステムが

づく研磨システムが用いられる。初めのステップで、95%のふすまは研磨剤で除去され、それは粒を研磨面に接触させて行う。最終的に粒の表面に残ったふすま層は、研磨白色装置で粒と粒の間をこすり付けて除去する。搗精程度は直線的に研磨時間で増加しない (Lamberts *et al.*, 2007)。搗精プロセスの間の変化が観察されたが、ふすまの堅さの違いのためである；ふすまの堅さは外から内の層に向かって低下する。しかしながら、内胚乳区分は異なっても同じ堅さである。ふすまから内胚乳への移行は、搗精の程度がほぼ9%になった時に到達する。

米の色は重要な品質上のパラメーターであるが、搗精の程度に関係するが、それは色素の分布が粒の中で均一ではないためである。生の米粒と米粉の輝度は搗精の程度により上昇するが、それはふすまと外側の内胚乳が除去されるまでである。ふすまと内胚乳外側はより、内胚乳の中心あるいは中核部よりも赤、黄色の色素を多く含むからである。しかしながらこれらの色素は、内胚乳中間部、中核部に均一に分布している。

殆どの米は粒として食べる。しかしながら米粒は地面でひび割れるるか、あるいは乾燥の間、または搗精プロセスの間もひび割れる。これらのひび割れは、粒が壊れた米をつくる。米の製粉では4.40%の壊れた粒の生成がおり、それは米の品種と搗精装置によるためである。壊れた粒は選別機で全粒と分けるが、それは調理の間それらがどろどろになる傾向にあり、このため食用の品質を低下させるためである。こわれた粒は、最終利用（醸造、スクリーニング、製粉）用にさらにもっといろいろなサイズに分ける。幾つかの国では、こわれた米はそのまま売られるが、製粉した米より値段は安い。破碎した米は、ビール製造、高フラクトースシラップ、粉、高タンパク質粉、デンプン、マルトデキストリン、グルコースシラップ、家畜用餌、スピリッツ、蒸留酒に用いている。

結論として、米から精米、破碎米、米ふすま、皮、外皮をえる。価値を与えた多くの製品が米から発達し、例えば昔からの加工米（おかゆ、発芽米等）、米粉、ふかした米、および乾かしてかりかりにした米、朝食用セリアル、スナックがある (Barber and Benedito 1970, Nguyen and Tran, 2000; Wilkinson and Champagne, 2004)。

研削

砕かれた米粒は3つの異なった方法で粉に挽くことができる (Yeh, 2004)；

- (1) 湿らせた粉碎は、まず初めに砕かれた粒を水中に浸ける。水から引き上げ粒を水の存在下で砕くが、それは損傷デンプン量を減らすためである。過剰の水は乾燥で除去し、粉は再び再粉碎し、湿米粉を得る。この生産物はいろいろなアジアの特殊なものに用いられ、例えば日本のケーキ、台湾のケーキ、インドの発酵食品等である。
- (2) 湿研削を0.3–0.5%NaOHの存在下で行うことが米デンプン、米マルトデキストリン、シロップの調製時に用いられる。
- (3) セミドライ研削はまた、浸ける、引き上げる、そして過剰の水なしで研削する。乾燥の研削も可能である；この場合破碎した乾燥粉は直接に湿米を直接異なったサイズへと砕く。乾燥米粉は、ベーキング、ベビーフード、エクストルージョン料理製品、高タンパク質粉製品に用いられる。

米粉の性質

米のバラエティは、その栽培地域、粒サイズ、アミロース含量で分類される。インデカ米はインド、バングラデッシュ、ベトナム、タイ、パキスタン等で育ち、一方、ジャポニカ米は中国北部、中部域同様、日本、韓国で栽培される。穀粒のサイズに基づいて、米は長（6.6mm以上）、中（5.5–6.6mmの間）、あるいは短（5.5mm以下）に分類できる。アミロース含量はモチ（1%以下のアミロース）とウルチ（アミロース10%以上）で異なる。米は主に精米として用いられ、このため米の異なったタイプの中で第一の違いは、その物理—化学的性質の違いもあるが、料理の特徴に反映する (Vasudeva *et al.*, 2000)。米粉は完全な穀粒から得られるが、搗精プロセス間に壊れた粒殻からも得られ、そのコストは全精米粒よりも安価である。一般に米粉は粉碎親粒と同じ化学組成である。米粉の特徴は、固有品種のバリエーション、生育環境の違い、粉碎方法、研削方法、事前の処理の違いによって変わってくる。

米粉は主にはアミロース含量が異なり、そのため糊化温度が変わり、一般的糊の性質、粘弾性が変わ

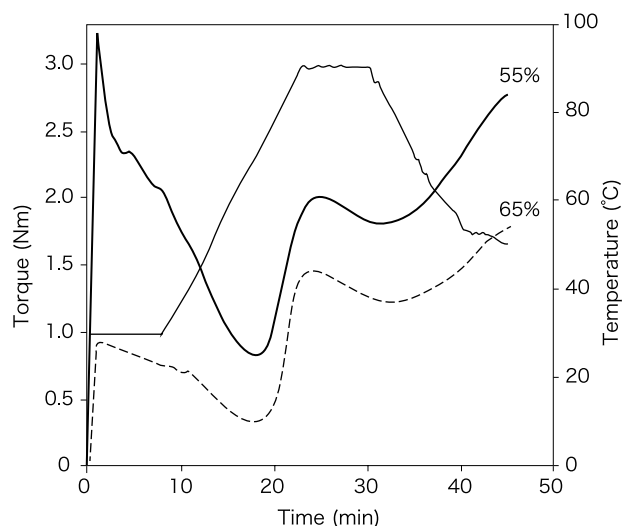


図 4.2 異なった加水量を加えた場合、混合、加熱、冷却中の米生地挙動の Mixolab 分析
温度：太線。数字は、生地の混合のために加えた水の量（粉ベースでパーセント表示）。

る (Fan and Marks, 1998; Singh *et al.*, 2000; Meadows., 2002; Saif *et al.*, 2003; Rosell and Gomez, 2006)。糊化性質の分析は米粉の性質の特徴を示す有用な方法で行われる。アミログルフは古くから用いられる機器であるが、最近は rapid viscoanalyzer (RVA) に置き換わったが、RVA は精度、感度、迅速性が高く、糊化性をより良く理解をさせてくれる (Meadows, 2002; Gujral *et al.*, 2003a)。米粉の糊化の性質は大きく品種による；事実、米栽培者は良く RVA を米品質の指標としている。栽培品種 Bomha と Thaibonnet の米粉は、より高い糊化温度を示すがこれは高糊化温度と低ピーク粘度によるもので、高アミロース含量からくるためである。これらの性質は典型的には長粒による (Rosell and Gomez, 2006; Rosell and

Collar, 2007)。しかしながら、Bomha は非常に短粒であり、料理用の間、長粒の用に振る舞う。Bomha 粒は、高温度保持サイクルの間、低粘度のブレイクダウンを示し、冷却の間、老化の傾向を示すはっきりした粘度増加を示す。そのため粒長だけで米の糊化性質を示すことには用いられない。対照として、Bahia と Senia はより高ピーク粘度とより低い糊化温度を示し、そしてその両方は加熱、冷却の間、同じ性質を示す。

近赤外スペクトロスコープは、タンパク質とアミロース含量の迅速測定技術である (Miryeong *et al.*, 2004)。マーケット上に現れた新しい装置の 1 つに Mixolab がある (Chopin により開発)。Mixolab で、粉の攪拌と糊化の性質が（即ち、粉の機械的、熱的制約下に於ける性質）決まる (Bonet *et al.*, 2006 ; Rosell *et al.*, 2007)。得られたプロットから外挿して有用な情報が得られた。加熱サイクルスタート前の最初のカーブの部分から、粉の吸水性が求められる。トルク 1.1Nm の対象は Brabender Farinograph の 500BU に相当する。2 番目カーブの部分は、RVA の普通得られるものと類似のものである。しかしながら Mixolab はドウシステム中で働くのに対し、一方 RVA 分析は懸濁液中で働く。アッセイの間、カーブの異なるスロープは、粉の異なった性質に関係がある：加熱によるタンパク質ネットワークの弱体化のスピード (α)；糊化速度 (β)；および酵素的分解スピード (γ) による。例えば、Mixolab は米粉の性質への水添加効果を示す (図 4.2；表 4.2, 4.3)。

水添加増加にともなって、ドウの希釈効果と一致してドウ物性の低下が求められた。この違いは攪拌

表 4.2 Mixolab 実験から得られた米粉性質への異なった加水量添加時の影響

Water level (%, flour basis)	Development time (min)	Maximum consistency (Nm)	Amplitude (Nm)	Stability (min)	Minimum torque (Nm)	Peak torque (Nm)	Torque at the end of heating (Nm)	Final torque (Nm)
55.0	1.18	3.25	0.276	0.9	0.82	2.01	1.81	2.78
65.0	1.62	0.93	0.051	1.12	0.33	1.48	1.22	1.78

表 4.3 異なる加水量添加時の米粉生地の Mixolab 曲線から得られたパラメーター

Water level (%, flour basis)	Derived parameters				
	Cooking stability	Setback (Nm)	α (Nm/min)	β (Nm/min)	γ (Nm/min)
55.0	0.90	0.97	-0.156	0.340	-0.018
65.0	0.82	0.56	-0.090	0.384	-0.042

ステップ間（カーブの初めの部分）により大きくなり、そこではドウが機械的拘束により影響され、タンパク質が主な役割を演じているのである（Rosell *et al.*, 2007）。しかしながら、加熱と冷却サイクルの間、異なる水分含量のサンプル間の違いは低下する。システム中の水存在量は、デンプン糊化に限界があるが、多量のデンプンの糊化には十分であった。

製パン用に適した粘性に達するために、米粉ドウは小麦粉ドウに比べて非常に高い水和を要求する。大量の水の添加は、攪拌の間にドウ性質のかなりの改良を導く（例えばより高い安定性）。加熱—冷却サイクルの間、より高い水和ドウはより低いピークトルク（これはデンプン糊化に関連する）を示し、さらに冷却の最後にはより低い最終トルクを示し、それはデンプンの希釈効果のためである。より水和した米ドウはまた、より低いセットバック（アミロースの老化傾向に関係）を示し、それはアミロース希釈によるため、一方、デンプンの糊化程度（ α ）、酵素分解速度（ η ）は多量の水利用で増加する。糊の性質がベーキングの間の動きに影響するために、特に粉がベーキングをきめる際には注意深い粉砕に用いる米品種の選択が薦められる。

一般に、長粒品種は中間粒あるいは短粒品種よりもアミロース含量が高く、高い糊化温度を示し、より老化傾向が大きい。米粉はもち米品種からも得られる。これらのもち品種はアミロース含量が1%以下で、低糊化温度（61–62°C）を示す。例えその性質がベーキングに適してなくともこれらの粉はマイナーな成分として用いる事ができる（Bean *et al.*, 1984）。環境の違いがまた、米粉の糊の性質を決めるのに顕著な役割を演じる。実際には、Minh-Chau-Dang and Copeland（2004）が、3種の異なる米品種（Doongera, Langi, and Kyeena）の糊の性質への生長季節、場所の違いの影響を調べた。遺伝子タイプ、生長季節、栽培場所、全てが米粉の糊化の性質に影響する。

生長季節が最も寒冷のものは、各栽培品種のアミロース含量が顕著に高く、その結果、アミロース含量のより低いサンプルよりもRVAトレースで低いピーク粘度と高いセットバックを示す。同じ米栽培品種が同一季節に他の場所で生長する時、得られた粉には科学的成分に顕著な違いは無かった。しかしながら、顕著な違いが糊化の性質にあり、環境の影

響は米の糊化の性質に影響する事がわかる。結論から言うと、米粉の糊化の性質は遺伝子タイプに関係あり、環境要因で影響を受けるが、粒の細かな変化は化学分析では判らないという事である。

米粉の物理的性質は、また収穫と製粉の間の経過時間によっても影響を受けるが、それは貯蔵前の乾燥プロセスに用いた温度によるものと同じであった。収穫時の米水分含量の米粉の性質への影響が、長粒、中粒米で研究された（Lin-feng-Wang *et al.*, 2004）。粉のピーク粘度は、米の機能性とパフォーマンス（できれば）を示すもので、米収穫時の水分含量の低下にともなって増加する、しかし増加のスピードは米品種、生長場所によって影響される。さらに貯蔵期間、温度は顕著に米粉のエンタルピー、糊化温度、老化に影響する事がわかった（Fan and Marks, 1999）。

最近、Zhou *et al.*,（2003）は、米貯蔵の時間と温度も各栽培品種のRVA米粉糊化カーブに影響することを観察した。この実験で、タンパク質のプロフィールの変化が観察され、そこには高分子量ペプチド量の増加と貯蔵時間の間のポジティブな関係が認識された。事実、オリゼニンの構造と性質の変化は、デンプンよりも、貯蔵と結びつく米の物理的性質の変化に関係が大きかった（Teo *et al.*, 2000；Patindol *et al.*, 2003）。製粉工程の条件は非常に重要であり、テンパリングの間、多くの乾燥ステップと温度は大きく米品質に影響する（Correa *et al.*, 2007）。2段階、あるいは3段階目の乾燥は、1段階目の乾燥に比べ乾燥による割れ目%を低下させる（Aquerreta *et al.*, 2007）。高温でのテンパリング（60 °C）も乾燥ステップ数とは関係無く割れ目粒の%を低下する。用いる研削法も、米粉の機能的性質に影響を与える。製粉の方法とタイプは、米粉の粒子サイズを決め、また損傷デンプン量を決める。Nishita and Bean（1982）は、異なった製粉機で得た米粉の性質について比較研究した。

ローラー製粉機は米粉を中間の粒子にし、ベーカーリーに都合良い状況にする。対照としてバー製粉機は、多少あらっぽい粉にし、製パンでは低品質用のものを作る。ハンマー製粉機を利用すると、高レベルの損傷デンプンを含むより細かな粒となり、製パンには十分ではないが、ケーキ製造には用いる事ができる。糊化性質では、より大きな粒子サイズの粉

は、低いピーク粘度と 50℃で最終粘度（老化への低い傾向）となり、一方、中間あるいは小粒子の粉は、どんな顕著な変化もその性質に示さなかった。

DSC で得たエンタルピー結果は、粉碎の間のデンプン損傷の程度を示す。より低いエンタルピー値はより高いデンプンの損傷と関係ある。(TSL) (熱刺激ルミネッセンス) も熱分析技術として用いられるが、TSL で観察されるものは、標本においては永久の相変化によるものである (Murthy *et al.*, 2007)。照射した米粉をこの技術で調べ、電子/ホールトラップ生成に TSL ピーク強度の増加が見られた。

他のルミネッセンス技術は光ルミネッセンス (Katsumata *et al.*, 2005) である。光ルミネッセンスのピークの強さは、米の品種の違いとその起源によって異なる。光ルミネッセンスの 2 次元イメージは、この技術を米製品の品質コントロールの目的で非破壊的迅速評価として大きく用いられ、異なった品種のブレンド、コンタミ、外国サンプルの検知を可能とした (Katsumata *et al.*, 2005)。粉のレオロジー的性質は、温度、水分、脂質含量によっても影響される。Dautant *et al.*, (2007) は、一定の水分含量下で粘度は温度が上がると低下すること、そして適用される温度に関係なく、ずり速度が上がると低下することを見出した。このずり速度が上がると粘度低下する事は、材料の擬似性を示す。水分あるいは脂質含量 (5% まで) の増加は、また粘度を低下させる。エクストルージョンプロセスの間、米粉は調理される。そこで、食品産業に用いられるベストの加工条件を決めるとき、重要な事は米粉の特性を考慮する事であり、それは最終製品の品質に影響するためである。

通常、米粉は精米からか製粉粒からも得られるが、時には玄米が製粉に用いられる事もある。玄米から得られた粉は、同じ製粉したものより 13–17℃糊化温度が高く、そして約 40% 大きな糊化エンタルピーを示す (Normand and Marshall 1989)。玄米からの粉は高含量の繊維、ビタミンを含み、穀粒の外側の粒中にそれらは富んでいる。これらの成分は特に焼

き物に感覚的性質 (色, テクスチャ, 味) を与える。しかしながら玄米粉は非常に短い保存期間しかない。これは活性リパーゼとリポキシゲナーゼの存在によるため、これは遊離脂肪酸の放出により、酸化が始まり製品の味に苦みを与える。これらの粉の安定性は貯蔵中の温度、湿度の低下、あるいは不活性大気を用いる事で増加が起こる；しかしながらこれらの修正は製品のコストに影響する。変わったものとして、玄米粉は、既にひいた米粉に製粉したふすまを適当レベル添加する事で調製することができる。この場合、ふすまは化学的、物理的処理を事前に行いその安定性を確かなものにして保存性の延長を確かなものにすることができる (Champagne *et al.*, 1991; Champagne and Grimm, 1995)。異なったやり方でふすまの脂肪を除去する。米ふすまを脱脂、あるいはしない場合も、小麦ベース製品の繊維、ビタミン源として用いる事ができる (Lima *et al.*, 2002)。

米粉は調理した米からも得る事ができ、その加工で定常および動的剪断におけるレオロジー的性質を修正する (Chun and Yoo, 2004)。製粉前、穀粒を煮るような加工して、米の物理化学的特徴を変えることができる。煮る加工で、水稻を水に浸け、加圧下の蒸気をかけ、米粒中のデンプンを糊化する。冷却後、ゆっくり乾燥すると砕ける効果が低下する。デンプンの結晶から非結晶状態に変化させる事は、栄養成分をふすま層からデンプン内胚乳へ移動する傾向にある。煮た米はより高含量レベルの栄養価 (ビタミン, メタル) と異なった官能特性を示す。煮た米から得た粉は、ソフトで粘ったドウを作るが、それは低水分保持能とアミラーゼ攻撃への高い感受性のためである。そこで、これらの粉は製パンには適さず、ケーキ製造に低濃度で用いる事ができ、ここでは短加工時間がアミラーゼ活性を低下させる。前もって糊化した米粉は、エクストルージョン、パフ、あるいはローストによって得る事ができる。全てのこれらの処理は、米粉のレオロジー性質と反対に働き、ネバネバしたドウと低容積パンをつくる (Bean and Nishita, 1985)。 次号につづく。

References

- Aquerreta, J., Iguaz, A., Arroqui, C., and Vírveda, P.: *J. Food Eng.* **80**: 611-618. 2007.
- Barber, S. and Benedito de Barber, C.: *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **10**: 18-26. 1970.
- Bean, M. M. and Nishita, K. D.: *Rice: Chemistry and Technology*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. 1985.
- Bean, M. M., Esser, C. A., and Nishita, K. D.: *Cereal Chem.* **61**: 475-480. 1984.
- Bond, N.: *Rice: Chemistry and Technology*, 3rd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 283-300. 2004.
- Bonet, A., Blaszcak, W., and Rosell, C. M.: *Cereal Chem.* **83**: 655-662. 2006.
- Champagne, E. T. and Grimm, C. C.: *Cereal Chem.* **72**: 255-258. 1995.
- Champagne, E. T., Hron, R. J., and Abraham, G.: *Cereal Chem.* **68**: 267-271. 1991.
- Champagne, E. T., Wood, D. F., Juliano, B. O., and Bechtel, D. B.: *Rice: Chemistry and Technology*, 3rd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 77-107. 2004.
- Chun, S. Y. and Yoo, B.: *J. Food Eng.* **65**: 363-370. 2004.
- Correa, P. C., da Silva, F. S., Jaren, C., Afonso, P. C., and Arana, I.: *J. Food Eng.* **79**: 137-142. 2007.
- Dautant, F. J., Simancas, K., Sandoval, A. J., and Müller, A. J.: *J. Food Eng.* **78**: 1159-1166. 2007.
- FAOSTAT (2007). <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>.
- Fan, J. and Marks, B. P.: *Cereal Chem.* **75**: 153-155. 1998.
- Fan, J. and Marks, B. P.: *Cereal Chem.* **76**: 894-897. 1999.
- Fitzgerald, M.: *Rice: Chemistry and Technology*, 3rd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 109-141. 2004.
- Gujral, H. S., Guardiola, I., Carbonell, J. V., and Rosell, C. M.: *J. Agric. Food Chem.* **51**: 3814-3818. 2003a.
- Hamaker, B. R.: *Rice Science and Technology*. New York: Marcel Dekker, pp. 177-194. 1994.
- Infocomm (2007): Rice information (<http://rO.unctad.org/infocomm/>).
- Katsumata, T., Suzuki, T., Aizawa, H., and Matashige, E.: *17th International Conference on Optical Fiber Sensors. Proceedings of the SPIE*, Vol. 5855: pp. 423-426. 2005.
- Lamberts, L., De Bie, E., Vandeputte, G. E. et al.: *Food Chem.* **100**: 1496-1503. 2007.
- Lima, I., Guraya, H., and Champagne, E.: *Nahrung* **46**: 112-117. 2002.
- Linfeng-Wang, Siebenmorgen, T. J., Matsler, A. D., and Bautista, R. C.: *Cereal Chem.* **81**: 389-391. 2004.
- Meadows, F.: *Cereal Chem.* **79**: 559-562. 2002.
- Minh-Chau-Dang, J. and Copeland, L.: *Cereal Chem.* **81**: 486-489. 2004.
- Miryong, S., Barton, F. E., McClung, A. M., and Champagne, E. T.: *Cereal Chem.* **81**: 341-344. 2004.
- Murthy, K. V. R., Rey, L., and Belon, P.: *J. Luminesc.* **122-123**: 279-283. 2007.
- Nguyen, V. N. and Tran, D. V.: Rice and life. In: *FAO Rice Information*, Vol.2: 2000. <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGPC/doc/riceinfo/Riceinfo.htm>
- Nishita, K. and Bean, M. M.: *Cereal Chem.* **59**: 46-49. 1982.
- Normand, F. L. and Marshall, W. E.: *Cereal Chem.* **66**: 317-320. 1989.
- Patindol, J., Wang, Y. J., Siebenmorgen, T., and Jane, J. L.: *Cereal Chem.* **80**: 30-34. 2003.
- Rosell, C. M. and Collar, C.: *Handbook of Food Products Manufacturing*. Weinheim: Wiley-VCH. 2007.
- Rosell, C. M. and Gómez, M.: *Bakery Products: Science and Technology*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, pp.123-134. 2006.
- Rosell, C. M., Collar, C., and Haros, M.: *Food Hydrocolloids* **21**: 452-462. 2007.
- Saif, S. M. H., Lan, Y., and Sweat, V. E.: *Int. J. Food Properties* **6**: 531-542. 2003.
- Singh, V., Okadome, H., Toyoshima, H., Isobe, S., and Ohtsubo, K.: *J. Agric. Food Chem.* **48**: 2639-2647. 2000.
- Teo, C. H., Abd-Karim, A., Cheah, P. B., Norziah, M. H., and Seow, C. C.: *Food Chem.* **69**: 229-236. 2000.
- Vasudeva, S., Okadome, H., Toyoshima, H., Isobe, S., and Ohtsubo, K.: *J. Agric. Food Chem.* **48**: 2639-2647. 2000.
- Watkins, T. R., Geller, M., Kooyenga, D. K., and Bierenbaum, M. L.: *Environ. Nutr. Interact.* **3**: 115-122. 1990.
- Wilkinson, H. C. and Champagne, E. T.: *Cereal Foods World* **49**: 134-138. 2004.
- Yeh, A. I.: *Rice: Chemistry and Technology*, 3rd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp.495-540. 2004.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., and Blanchard, C.: *Food Res. Int.* **36**: 625-634. 2003.

腸内細菌学会 『腸内細菌と宿主の共生—ライフコースの健康と病気を紐解く—』

日時：2020年6月11日（木）・12日（金） 会場：札幌サンプラザ（札幌市北区北24条西5丁目）

学会スケジュール（予定）

第1日6月11日（木）

- 9:50～10:00 開会の挨拶 綾部 時芳（北海道大学）
- 10:00～12:00 金枝の間：一般演題A コンサートホール：一般演題B
- 12:20～13:20 昼食休憩（ランチョンセミナー予定）
- 13:30～14:30 海外特別講演（コンサートホール）
Andre J. Ouellette (Department of Pathology & Laboratory Medicine, Keck School of Medicine of USC, University of Southern California)
“Defensins: Pleiotropic Mediators of Innate Immunity”
- 14:30～15:20 特別講演（コンサートホール）
山田 拓司（東京工業大学生命理工学院）
「メタゲノムおよびメタボローム解析によるヒト腸内環境由来大腸がん関連因子の特定」
- 15:40～15:50 腸内細菌学会研究奨励賞授賞式（コンサートホール）
- 15:50～16:30 受賞講演
- 16:40～17:50 一般演題A・C ポスター発表
- 18:00～19:30 情報交換会（会場：2階玉葉の間）
- 14:30～16:30 市民公開講座『健康になる食事と腸内細菌』（金枝の間）
國澤 純（国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所）
「おなかから考えるあなたの健康未来」
福田 真嗣（慶應義塾大学先端生命科学研究所）
「腸内環境に基づく層別化医療・ヘルスケアがもたらす未来」
吉野 正則（日立北大ラボ, 北海道大学 COI 拠点）
「北海道大学 COI “食と健康の達人”：母子に一番やさしいまち」
共催：北海道大学 COI「食と健康の達人」拠点

第2日6月12日（金）

- 9:30～12:00 シンポジウム1（コンサートホール）
『宿主からみた共生・腸内細菌からみた共生』
- 鈴木 敬一郎（理化学研究所 生命医科学研究センター）
「腸管 IgA による腸内共生細菌の制御メカニズム」
 - 中村 公則（北海道大学大学院 先端生命科学研究院）
「Paneth 細胞が担う腸内細菌叢の形成からみた疾患リスク上昇メカニズムの理解」
 - 辻 典子（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門）
「乳酸菌に特有の小腸免疫賦活と抗炎症メカニズム」
 - 小田巻 俊孝（森永乳業（株）基礎研究所）
「ビフィズス菌とヒトとの共生」
 - 平山 和宏（東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医公衆衛生学教室）
「腸内菌叢の変動要因」
 - 倉島 洋介（千葉大学大学院医学研究院 イノベーション医学）
「腸内細菌の制御を担う新たな“臓腑”の役割」
- 12:00～13:15 昼食休憩
- 13:15～15:45 シンポジウム2（コンサートホール）
『Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) と腸内細菌』
- 基調講演：山城 雄一郎（順天堂大学大学院プロバイオティクス研究講座）
「DOHaD に於ける腸内細菌の役割」
 - 木村 郁夫（東京農工大学大学院農学研究科 代謝機能制御学研究室）
「短鎖脂肪酸と DOHaD」
 - 下条 直樹（千葉大学大学院医学研究院 小児病態学）
「アレルギー疾患と周産期の菌叢」
 - 松木 隆広（（株）ヤクルト本社中央研究所）
「乳児腸内菌叢の形成とビフィズス菌の定着意義」
 - 三上 克央（東海大学医学部専門診療学系 精神科学）
「腸内細菌叢による発達早期の精神活動への影響」
- 15:50～16:00 閉会の辞

α -オリゴ糖 (α -シクロデキストリン) による アレルギー疾患の改善効果

近本 啓太 (CHIKAMOTO Keita)¹, 古根 隆広 (FURUNE Takahiro)¹, 寺尾 啓二 (TERAO Keiji)^{1,2}

Key Words: α -オリゴ糖 腸内細菌叢 アレルギー性疾患

はじめに

アレルギー疾患とは、ホコリやハウスダスト、花粉などのアレルゲンの刺激が引き金となり起こる疾患で、生体内でアレルゲンに対し過剰な免疫反応を示すことで、皮膚炎や鼻炎など様々な症状が引き起こされる疾患である。平成 23 年リウマチ・アレルギー対策委員会報告書によると、日本全人口の 2 人に 1 人が何らかのアレルギー症状を抱えている¹⁾。

近年、人々の腸内細菌への関心は高まってきており、2018 年度では整腸作用をもつ特定保健用食品で乳酸菌食品は年間 3468 億円、オリゴ糖は 118.4 億円規模と非常に大きな市場となっている²⁾。さらに、腸内細菌叢は様々な疾患の発症と関わっているとされており、近年の研究では、腸内細菌叢の改善がアレルギー性疾患の回復につながることが分かっている。

α -オリゴ糖 (物質名: α -シクロデキストリン) はオリゴ糖の一つであり、高い水溶性および腸内細菌による発酵性を有する³⁾。 α -オリゴ糖の摂取は腸内細菌叢の乱れを改善する作用を有しており、様々な疾患への改善効果が期待される。本稿では、腸内細菌叢とアレルギー性疾患との関連を含め、 α -オリゴ糖摂取によるアレルギー性疾患改善作用について紹介する。

1. 腸内細菌とプレバイオティクス

腸内細菌は腸管内に常在する細菌であり、腸管内には 1000 種の細菌が 100 兆個存在するといわれて

いる⁴⁾。それら腸内細菌は腸管内において複雑な生態系を有しており、この生態系は腸内細菌叢または腸内フローラと呼ばれている。ヒトと腸内細菌は常に共生関係にあり、ヒトは食事をすることで腸内細菌に餌を提供し、腸内細菌はその餌に含まれる食物繊維を分解し、短鎖脂肪酸を宿主に提供している。またその他にも腸内細菌はビタミン類の産生、さらには宿主の免疫ともかかわっている⁵⁾。近年の研究では肥満や糖尿病などの代謝疾患をはじめとしたさまざまな疾患の発症は腸内細菌叢の乱れと関わっていることが判明しており、腸内細菌叢の乱れはヒトの健康に影響しうることから、腸内細菌叢の制御が非常に重要とされている⁶⁾。腸内細菌叢を制御する成分をプロバイオティクスやプレバイオティクスといい、現代ではその言葉が世に広く受け入れられている。プロバイオティクスは乳酸菌やビフィズス菌のように腸内細菌叢を改善し、宿主に有益な効果をもたらす微生物と定義されており⁷⁾、プレバイオティクスは食物繊維のようにヒトの消化酵素では分解されず、腸内細菌の餌になることで腸内細菌叢を改善し、宿主に有益な効果をもたらす難消化性食品成分と定義されている⁸⁾。

2013 年に理化学研究所、東京大学および慶應義塾大学の共同研究によって、免疫反応におけるプレバイオティクスの重要性が示された⁹⁾。その報告では、食物繊維の摂取による免疫作用への影響を調べたところ、食物繊維を摂取することで腸内細菌の活

¹ 株式会社シクロケムバイオ、² 神戸大学大学院医学研究科
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 7-4-5 email: keita.chikamoto@cyclochem.com

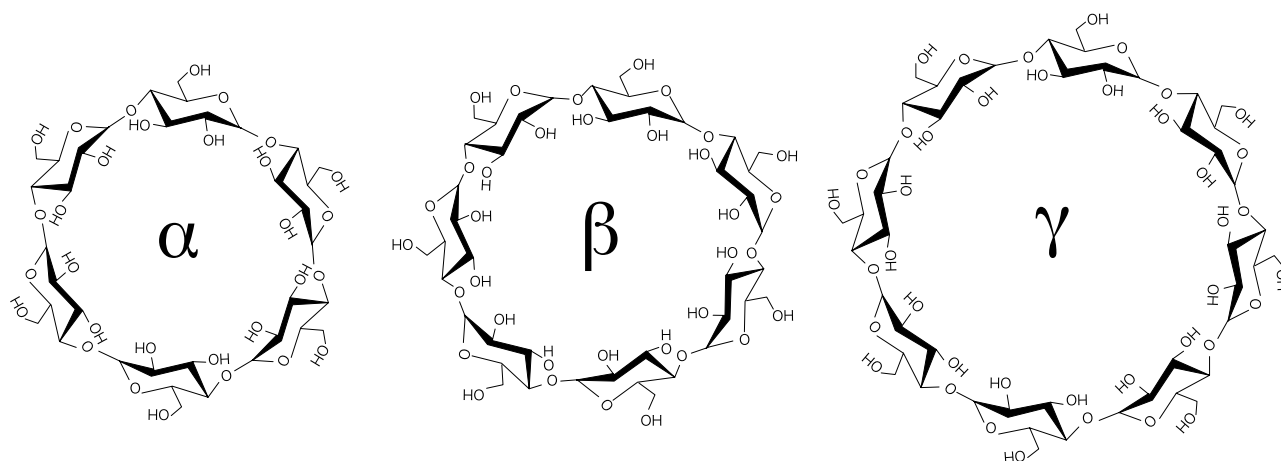


図1 各種環状オリゴ糖の分子構造

動が高まり、短鎖脂肪酸量が増加し、加えて、免疫反応を制御する制御性T細胞数の増加することが見出された。特に、短鎖脂肪酸のうち酪酸がこの制御性T細胞への分化誘導に関わっていることを示した。この報告からプレバイオティクスの摂取によって炎症やアレルギー性疾患など免疫にかかわる症状を改善できる可能性が示された。

2. 環状オリゴ糖（シクロデキストリン）とは

環状オリゴ糖はグルコースが環状に連なった構造をしており、それぞれグルコースが6つのものをα-オリゴ糖、7つのものをβ-オリゴ糖、そして8つのものをγ-オリゴ糖という（図1）。環状オリゴ糖の外側は親水性、空孔内側は疎水性である。そのため、環状オリゴ糖は空孔内に様々な疎水性基を持つゲスト分子を取り込み保持する「包接」という性質を持つ。空孔内の直径はα-オリゴ糖が0.5-0.6 nm、β-オリゴ糖が0.7-0.8 nm、γ-オリゴ糖が0.9-1.0 nmと異なるため、それぞれ空孔内に取り込みやすい分子が異なる（表1）。例えば、α-オリゴ糖はエタノールや二酸化炭素、飽和脂肪酸など低分子や直鎖の構造を取っているもの、β-オリゴ糖はコレステロールやモノテルペン類などの中程度の分子やにおい成分を、γ-オリゴ糖はコエンザイムQ₁₀やクルクミンなどヒトケミカル（加齢とともに減少する生体内に存在する機能性成分）やポリフェノール類をそれぞれ包接することが知られている。環状オリゴ糖は経口摂取した際、その種類によって消化、代謝のされ方が異なることが知られている。α-オリゴ糖およびβ-オリゴ糖はα-アミラーゼでは分解されない難消化性の性質を持つ。

表1 各種環状オリゴ糖の性質

	水溶性 (25℃) (g/100mL)	空孔内の直径 (nm)
α-オリゴ糖	15	0.5-0.6
β-オリゴ糖	2	0.7-0.8
γ-オリゴ糖	23	0.9-1.0

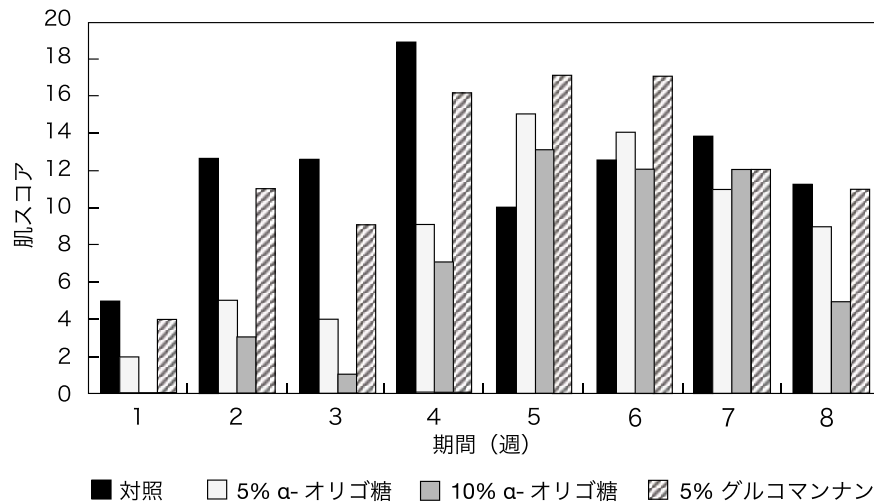
一方、γ-オリゴ糖はα-アミラーゼによって環状構造が分解され、グルコースまで分解される。α-オリゴ糖およびβ-オリゴ糖は小腸で消化されずに盲腸、大腸まで到達すると、そのほとんどが腸内細菌によって短鎖脂肪酸へと代謝される¹⁰⁾。 *Lactobacillus* 属は整腸作用を持つ乳酸菌、*Bacteroides* 属は肥満と関連していることから痩せ菌とも呼ばれているが、α-オリゴ糖は *Lactobacillus* 属および *Bacteroides* 属によって分解されることが報告されている^{11,12)}。

3. α-オリゴ糖摂取によるアレルギー症状改善効果

α-オリゴ糖の摂取により、いくつかのアレルギー症状が改善する結果が得られている。これは、α-オリゴ糖を摂取した糖尿病患者やその予備軍、肥満者の中で、アレルギー性疾患にも悩む方々から、「アレルギー性疾患が改善した」との報告が相次いで寄せられたことが発端となり、試験を行った。以下、α-オリゴ糖摂取によるアレルギー症状の改善作用について説明する。

3-1. アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いたα-オリゴ糖摂取によるアレルギー性皮膚炎改善効果

我々はアトピー性皮膚炎モデルマウスを用いてα-オリゴ糖摂取によるアトピー性皮膚炎に対する

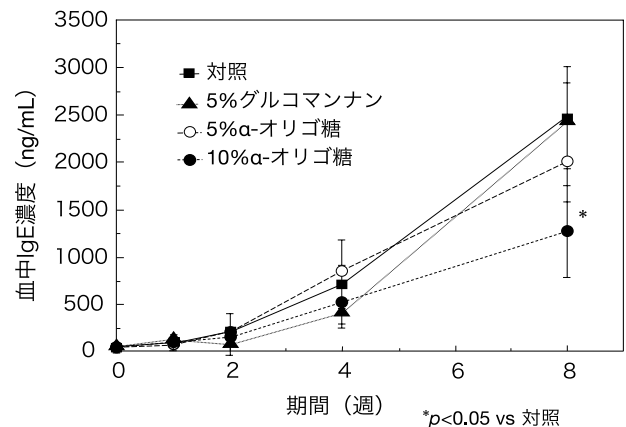
図2 アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける α -オリゴ糖摂取による肌スコアへの効果

図は参考文献 12 より改変

作用を検討した¹³⁾。NC/Nga マウスはヒトのアトピー性皮膚炎に似た症状を示すことから、アトピー性皮膚炎モデルマウスとして一般的に用いられている。NC/Nga マウスを4群に分け、対照、5% グルコマンナン含有食、5% α -オリゴ糖含有食、および10% α -オリゴ糖含有食を与えた。そして、塩化ピクリル (PiCl) を塗布することでアトピー性皮膚炎症状を誘導し、各群におけるアトピー性皮膚炎症状の程度を調べた (図2)。アトピー性皮膚炎症状の重症度は、スコアが高いほどアトピー性皮膚炎症状が重度であることを示している。

検討の結果、アトピー性皮膚炎症状誘導から4週までは5% α -オリゴ糖および10% α -オリゴ糖の摂取によりアトピー性皮膚炎症状の改善がみられた。一方で、グルコマンナンではアトピー性皮膚炎症状の改善効果は見られなかった。また、症状誘導8週目においても10% α -オリゴ糖摂取によりアトピー性皮膚炎症状の改善がみられた。血中 IgE 濃度の上昇は皮膚炎症状の増悪と関連していることが知られている。そこで、各試験食摂取期間中の血中 IgE 濃度の変化を測定した (図3)。その結果、摂取から4週目までは各試験食間では差はなかった一方で、摂取8週目では10% α -オリゴ糖の摂取で血中 IgE 濃度は有意に低下した。

これらの結果から、アトピー性皮膚炎モデルマウスにおいて α -オリゴ糖の摂取はアトピー性皮膚炎症状を改善することが示唆された。

図3 アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける α -オリゴ糖摂取による血中 IgE への効果

図は参考文献 12 より改変

3-2. 気管支喘息に対する改善効果

気管支喘息の罹患者は平成26年厚生労働省の患者調査によると100万人以上存在している。その中のアトピー型の気管支喘息は、ホコリ、ハウスダストや花粉などのアレルゲンの刺激が引き金となり、慢性的に気道に炎症が起こり、発作的に呼吸困難や咳などの呼吸器症状を示す疾患である¹⁾。

そこで、我々は気管支喘息症状に対する α -オリゴ糖摂取効果について検討した。気管支喘息症状を有する20歳以上60歳以下の男女17名に α -オリゴ糖を1日2回朝、夕食中に水またはぬるま湯に溶かして摂取させた。評価については摂取2週間前から摂取後12週間の計14週間毎日アンケート調査を実施した。アンケート調査では、被験者本人が喘息症状を有した日、症状を記入した。症状は発作の程度を「全くない」：0、「咳発作」：1、「小発作」：2、

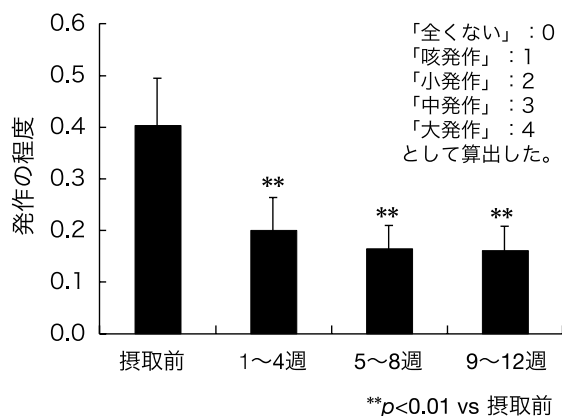


図4 α-オリゴ糖摂取後の発作の程度

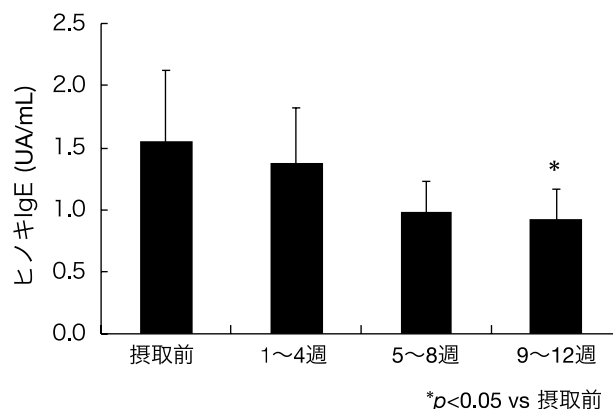


図5 α-オリゴ糖摂取後の血中ヒノキ IgE 濃度変化

「中発作」: 3, 「大発作」: 4 として期間ごとの平均値を算出した (図4)。摂取1-4週目の発作の程度は、摂取前と比較すると有意に低下した ($P=0.007$)。また5週目以降も摂取前と比較して発作の程度が有意に低下した。次に、各摂取期間の血液サンプルでは、ヒノキの特異的 IgE を測定した (図5)。その結果、α-オリゴ糖を12週間摂取することで摂取前と比較してヒノキ IgE 濃度は有意に低下した。

これらの結果から、α-オリゴ糖摂取は血中 IgE 濃度の低下および気管支喘息症状の改善作用を有することが示唆された。

3-3. アトピー性皮膚炎に対する改善効果

アトピー性皮膚炎は慢性的な痒みを伴う疾患であり、平成26年厚生労働省の患者調査によると、アトピー性皮膚炎の罹患者は45万人以上もいるとされている¹⁾。

そこで、我々はアトピー性皮膚炎症状に対するα-オリゴ糖摂取効果について検討した。アトピー性皮膚炎症状を有する20歳以上60歳以下の男女14名にα-オリゴ糖を1日2回朝、夕食中に水また

はぬるま湯に溶かして摂取させた。アトピー性皮膚炎症状について試験前、摂取4週間後、摂取8週間後および摂取12週間後に医師の所見による評価を行った。医師の所見による評価では、アトピー性皮膚炎症状を「紅斑」「腫脹」「丘疹」「乾燥」「落屑」「掻痒」「掻破痕」に分類し、各症状についてその症状の程度を症状なし(-)から、(+), (++)、(+++)の5段階で評価した (図6)。その結果、摂取8週間後の「紅斑」症状、摂取4週間後および摂取8週間後の「乾燥」症状および、摂取12週間後の「掻痒」症状において、摂取前と比較して症状が軽度の人数が増加した。さらに試験前、摂取4週間後、摂取8週間後および摂取12週間後の特異的 IgE を測定した結果、血中スギ IgE 濃度は摂取4週間以降に摂取前と比較して有意に低下し、血中ハウスダスト1やピチロスポリウム IgE 濃度は摂取8週間以降に、血中イヌノフケ IgE 濃度は摂取12週間で摂取前と比較して有意に低下した (表2)。

これらの結果から、α-オリゴ糖摂取は血中 IgE 濃度の低下およびアトピー性皮膚炎症状の改善作用を有することが示唆された。

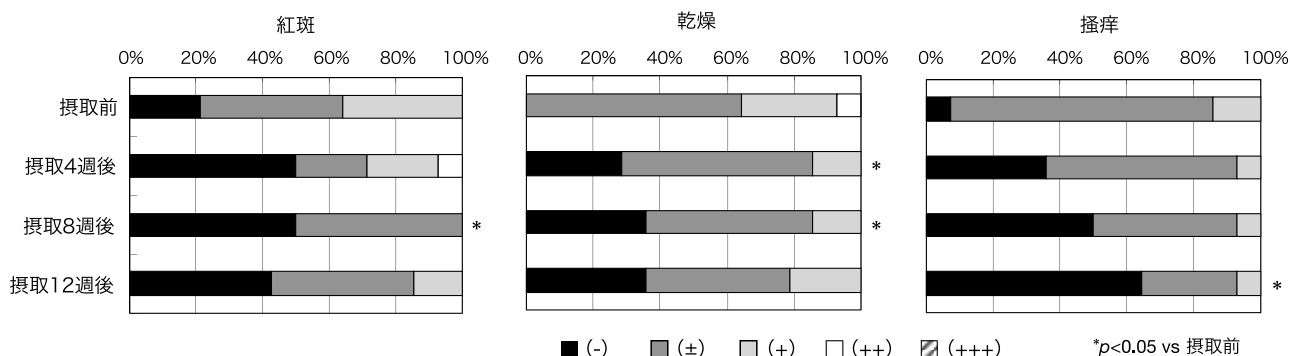


図6 アトピー性皮膚炎症状に対する医師の所見の推移

表2 α-オリゴ糖摂取後の血中 IgE 濃度変化

特異 IgE	単位	摂取前	摂取 4 週後	摂取 8 週後	摂取 12 週後
イヌノフケ	UA/mL	2.57 ± 0.9	2.46 ± 0.88	2.27 ± 0.77	2.06 ± 0.63 *
スギ	UA/mL	27.9 ± 7.6	26 ± 7.4 **	23 ± 7.1 **	21.8 ± 7 **
ハウスダスト 1	UA/mL	61.6 ± 11.3	59.2 ± 11.6	57.1 ± 11.5 *	57.4 ± 11.5 **
ピテイロスポリウム	UA/mL	10.8 ± 5.4	12.2 ± 6	7.3 ± 3.6 *	7.8 ± 3.9 *

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs 摂取前

4. α-オリゴ糖摂取によるアレルギー症状改善作用の機序について

アレルギー性の諸症状は腸内細菌叢と密接に関係している。これまでの検討から α-オリゴ糖の摂取はアレルギー性の諸症状を改善することが判明しているが、その作用機序については腸内細菌叢の改善効果の関与が考えられる。

我々は、α-オリゴ糖摂取による腸内細菌叢への影響と腸管内における短鎖脂肪酸の増加作用を明らかにしている¹⁴⁾。マウスに通常食、高脂肪食 (35 w/w% fat) および高脂肪食に 5.5% α-オリゴ糖を混ぜた餌を 16 週与え、盲腸内の短鎖脂肪酸量および糞便中の菌叢を T-RFLP 法で解析した。試験食 16 週間与えた後の糞便中の細菌叢を解析した結果、α-オリゴ糖の摂取は高脂肪食摂取によって減少した *Bacteroides* 属および *Lactobacillales* 目の割合を増加させた (図 7)。

腸管内では、食物繊維が *Bacteroides* 属を含めた一部の腸内細菌によって資化され、短鎖脂肪酸である酢酸、プロピオン酸および酪酸などが産生される。試験 16 週後の盲腸内短鎖脂肪酸量を GC-FID を用いて測定した結果 (図 8)、高脂肪食を摂取したマウスでは酪酸が $0.16 \pm 0.01 \mu\text{mol}$ であったのに対し高脂肪食に 5.5% α-オリゴ糖を混ぜた餌を食べさせたマウスでは $0.27 \pm 0.03 \mu\text{mol}$ と有意に増加した。総短鎖脂肪酸、酢酸およびプロピオン酸も同様に高脂肪食に 5.5% α-オリゴ糖を混ぜた餌を食べさせたマウスにおいて有意に増加した。これらの結果から、α-オリゴ糖の摂取は腸内細菌叢の乱れを改善し、酪酸をはじめとした短鎖脂肪酸量を増加させる作用を持つことが示唆された。

α-オリゴ糖摂取によるアレルギー症状の改善に

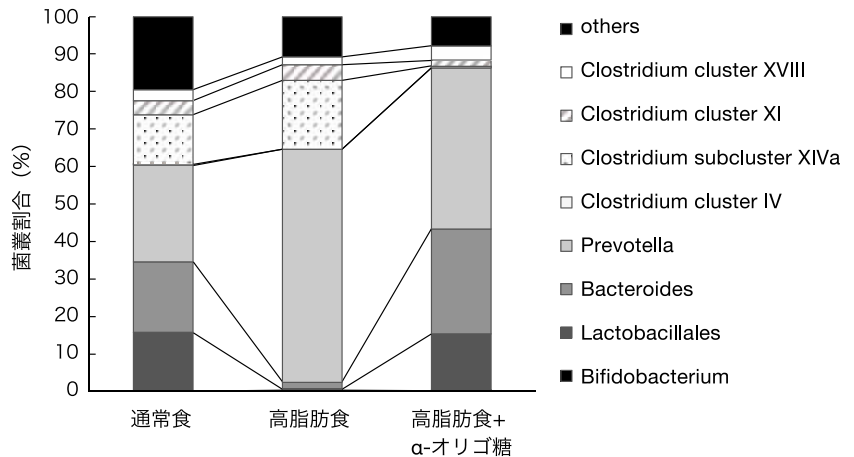


図 7 肥満マウスにおける α-オリゴ糖摂取による腸内細菌叢への効果
図は参考文献 13 より改変

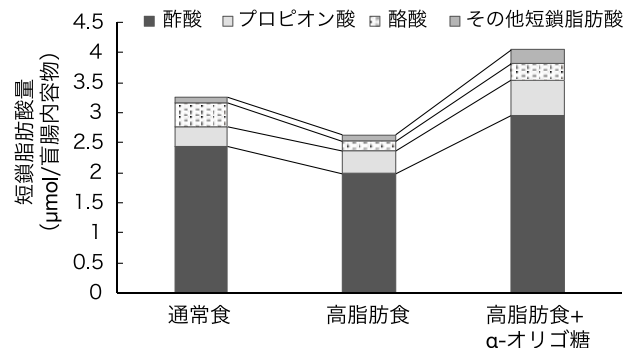


図 8 肥満マウスにおける α-オリゴ糖摂取による盲腸内短鎖脂肪酸量への効果
図は参考文献 13 より改変

は、腸管内の短鎖脂肪酸の中でも酪酸の増加が関連していることが考えられる。酪酸は免疫反応を制御する制御性 T 細胞数を増加させることが知られており¹³⁾、その制御性 T 細胞はヘルパー T 細胞を制御し、抗原に対する過剰な免疫反応を抑制している¹⁵⁾。また、近年の研究では、糞便中の酪酸量の低下が血中ダニ IgE 量の上昇と関連することが報告されている¹⁶⁾。これらから α-オリゴ糖摂取によるアレルギー性諸症状に対する改善効果には、短鎖脂肪酸産生の亢進や、制御性 T 細胞数の増加、Th2 細胞の

活性化が抑制することによる IgE の産生抑制が関与している可能性が考えられる。なお、これまでの検討でも、α-オリゴ糖は IgE 産生抑制効果を有していることが明らかにされており、この考察を支持している。

おわりに

本稿では、アレルギー性疾患と腸内細菌叢との関連を中心とし、α-オリゴ糖のアレルギー性疾患改善効果作用について概説した。

α-オリゴ糖は水溶性かつ難消化性の特徴を持っており、腸内細菌によって分解され、短鎖脂肪酸量を増加させる作用を持つオリゴ糖である。我々は動物試験や臨床試験により、α-オリゴ糖はアレルギー性諸症状を改善することを見出した。一方、その作用機序については、α-オリゴ糖は短鎖脂肪酸産生を亢進させる作用や IgE 産生抑制効果を持つことか

ら、おそらく酪酸産生の亢進による制御性 T 細胞数の増加、Th2 細胞の活性化が抑制することによる IgE の産生抑制効果が関与している可能性が考えられた。

近年、腸内細菌の研究は目まぐるしく進化している。次世代シーケンサーが当たり前となった今、より詳細な菌の働きが次々と解析されており、様々な疾患の発症にかかわる菌が次々と同定されている。α-オリゴ糖の摂取は *Lactobacillus* 属および *Bacteroides* 属を特異的に増やすことが分かっているが、より詳細な菌種への影響はまだわかっていない。今後、より詳細な腸内細菌叢の解析を行うことで α-オリゴ糖摂取による腸内細菌叢の改善を介した、アレルギー症状の改善のみならず新たな疾患との関連が発見されることが期待されるが、アレルギー症状が気になる方々の健康に α-オリゴ糖が少しでも貢献できれば幸いである。

参考文献

1. 厚生労働省 健康局 がん・疫病対策課：アレルギー疾患の現状等。2016。
2. 公益財団法人 日本健康・栄養食品協会：特定保健用食品の市場及び表示許可の状況。2019。
3. 寺尾啓二ら：スーパー難消化デキストリン“α-オリゴ糖”。健康ライズ出版社。2017。
4. Qin J, *et al.*: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. **464**: 59-65. 2010.
5. Nicholson JK *et al.*: Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. **336**(608608): 1262-1267. 2012.
6. Shen J, *et al.*: The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol. Aspects. Med.* **34**(1): 39-58. 2013.
7. Fuller R.: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 365-378. 1989.
8. Gibson GR, *et al.*: Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125**(6): 1401-1412. 1995.
9. Furusawa Y, *et al.*: Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. **504**: 446-450. 2013.
10. Kurkov SV, *et al.*: Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* **453**(1): 167-180. 2013.
11. Jo A, *et al.*: New Synbiotics by the combination of α-cyclodextrin and lactic acid bacteria. Proceedings of 25th Cyclodextrin Symposium in Japan. 2007.
12. Antenucci RN, *et al.*: Enzymatic degradation of .alpha.- and .beta.-cyclodextrins by bacteroides of the human colon. *J. Agric. Food. Chem.* **32**(6): 1321-1325. 1984.
13. Nakanishi K, *et al.*: Effect of cyclodextrin on allergic action of the PiCl-induced in NC/Nga mice. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **57**: 61-64. 2007.
14. Nihei N, *et al.*: Dietary α-cyclodextrin modifies gut microbiota and reduces fat accumulation in high-fat-diet-fed obese mice. *BioFactors*. **44**(4): 336-347. 2018.
15. Romagnani S.: Immunologic influences on allergy and the TH1/TH2 balance. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **113**(3): 395-400. 2004.
16. Chiu CY, *et al.*: Gut microbial-derived butyrate is inversely associated with IgE responses to allergens in childhood asthma. *Pediatr. Allergy. Immunol.* **30**(7): 689-697. 2019.

トマト種子エキスおよび含有サポニンの 皮膚細胞外マトリックスに及ぼす影響

Effect of tomato seed extract and its major saponins on extracellular matrix in skin

竹田 翔伍 (TAKEDA Shogo)¹

Key Words: トマト種子エキス, サポニン, 細胞外マトリックス, 美容素材, コラーゲン

はじめに

美容において、皮膚のしわ・たるみは見た目に顕著に現れることから、30代以降の肌の悩みでは常に上位に挙げられている。今日の化粧品や機能性食品市場においても、しわ・たるみ予防あるいは改善を謳った商品が多数見受けられており、肌老化に悩む消費者の多さを反映しているといえる。皮膚は外側から表皮層、真皮層で構成されており、このうち肌のハリや弾力を担うのは主に真皮層である。真皮層は主に線維芽細胞と細胞外マトリックス (extracellular matrix) で構成されており、特に細胞外マトリックスは肌の弾力に大きく影響を及ぼすコラーゲンやエラスチンの繊維で構成されているため、細胞外マトリックスの構成異常はしわ・たるみの大きな原因となる。したがって、皮膚の細胞外マトリックスを正常に保つことは、肌のコンディションを正常に保つうえで重要であるといえる。

著者らは、サポニンを含有するトマト種子の抽出物に着目し、美容素材として細胞外マトリックスに対する機能性についての研究を行い、2018年10月に機能性原料「トマト種子エキス」として上市している。本稿では、皮膚の細胞外マトリックスに関わる因子とその働きについて概説するとともに、トマト種子エキスの機能性として見出された細胞外マトリックスに及ぼす作用について紹介する。

1. トマト種子エキスと含有サポニン

先に述べた通り、著者らはトマト (*Solanum lycopersicum*) の種子の抽出物を原料とした機能性素材「トマト種子エキス」を2018年の10月に上市している。トマトは世界中で一般的に食されている植物であり、ビタミンC、リコピン、GABAなどの成分を豊富に含むことからジュースやサプリメントなどの加工食品としても販売されている。トマトの機能性としては、血圧低下作用やコレステロール低下作用が報告されている^{1,2)}。また、2004年にはトマトから新規のサポニンである esculeoside 類が同定され、そのうち esculeoside A にはマウスにおける高脂血症および動脈硬化の改善作用が見出されている³⁻⁵⁾。しかしながら、これらは全てトマトの果実に関する知見であり、トマトの種子に限定した報告はなかった。そこで著者らは、トマト種子に含まれる成分について研究を行った。乾燥トマト種子のメタノール抽出物より成分探索を行った結果、スピロソラン型サポニンである lycoperside A および H の2成分を単離・同定した (図1)。これらの化合物はトマト種子からの単離報告はなかった。また、これらのサポニン化合物はトマトの果肉抽出物中には含まれておらず、種子の主要成分であることがわかった (図2)。

2. コラーゲンおよびエラスチン産生に及ぼす作用

一般的なサポニンは細胞毒性を持つことが多いが、中には細胞毒性を持たず、皮膚線維芽細胞にお

¹ オリザ油化株式会社 研究開発本部 食品開発部 email: kaihatu@mri.biglobe.ne.jp
〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田1

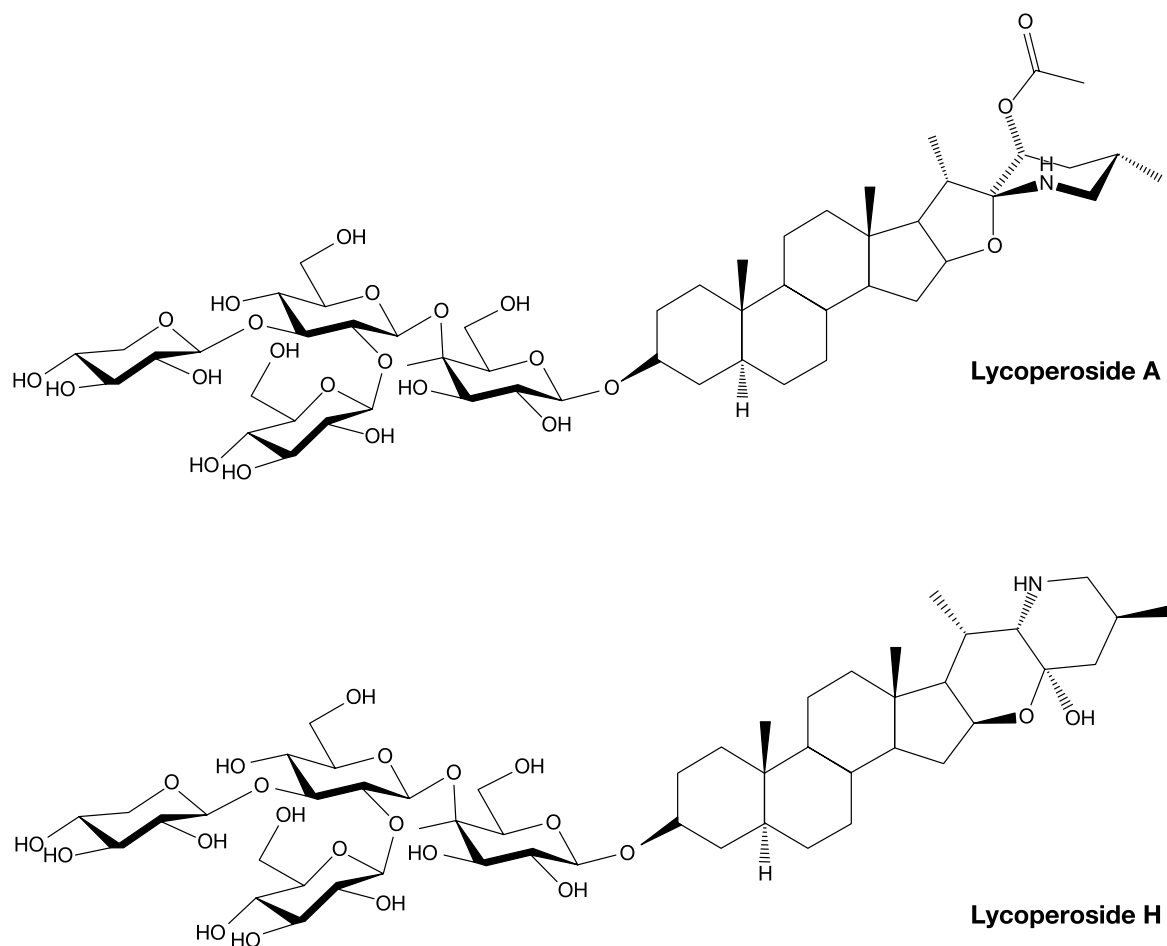


図1 トマト種子から単離されたサポニンの構造

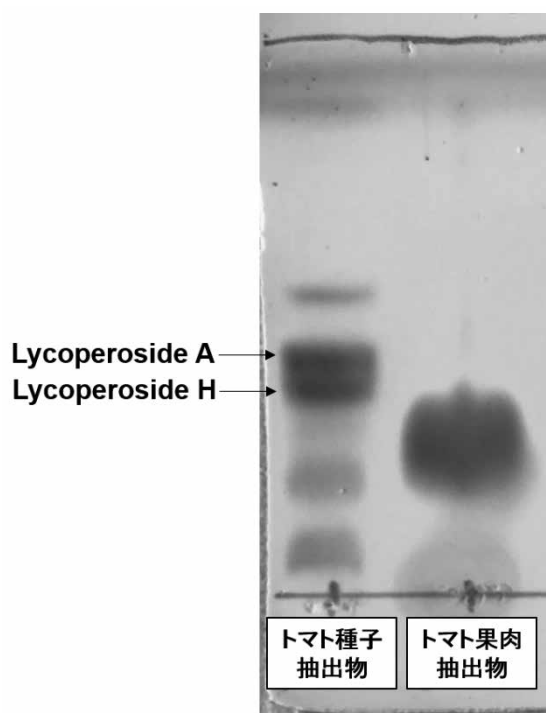


図2 トマト種子抽出物およびトマト果肉抽出物のシリカゲル TLC クロマトグラム

展開条件；クロロホルム：メタノール：水＝6：4：1，1% 硫酸セリウム含有 10% 硫酸を噴霧後加熱して発色

けるコラーゲン増殖活性を示すサポニンも報告されている⁶⁾。そこで著者らは，lycoperoside A および H の皮膚繊維芽細胞におけるコラーゲン産生能への作用を評価した。ヒト皮膚線維芽細胞（TIG-103）を 24 ウェルプレートに 1.0×10^4 個 / ウェルの細胞濃度で播種し，2 日間培養した。培養後の細胞にトマト種子抽出物（1, 3 または 10 $\mu\text{g/mL}$ ），lycoperoside A または H（0.1, 0.3 または 1.0 $\mu\text{g/mL}$ ）を添加し，1 日間培養した。添加培養後，培地を除去した細胞を PBS でホモジネートし，得られた細胞懸濁液中のコラーゲン量を Collagen assay kit（コスモ・バイオ社）を用いて測定した。さらに，同様の方法で培養した細胞に，トマト種子抽出物（1, 3 または 10 $\mu\text{g/mL}$ ），lycoperoside A または H（1, 3 または 1 μM ）を添加し，細胞層中のエラスチン量を Fastin elastin assay kit（バイオカラー社）によって測定した。また，MTT アッセイによる毒性評価も行った。その結果，トマト種子抽出物（3 $\mu\text{g/mL}$ ）および lycoperoside A（0.3 および 1 $\mu\text{g/mL}$ ）を添加した細胞では有意にコラーゲン産生量が増加していることがわかった（図 3A）。

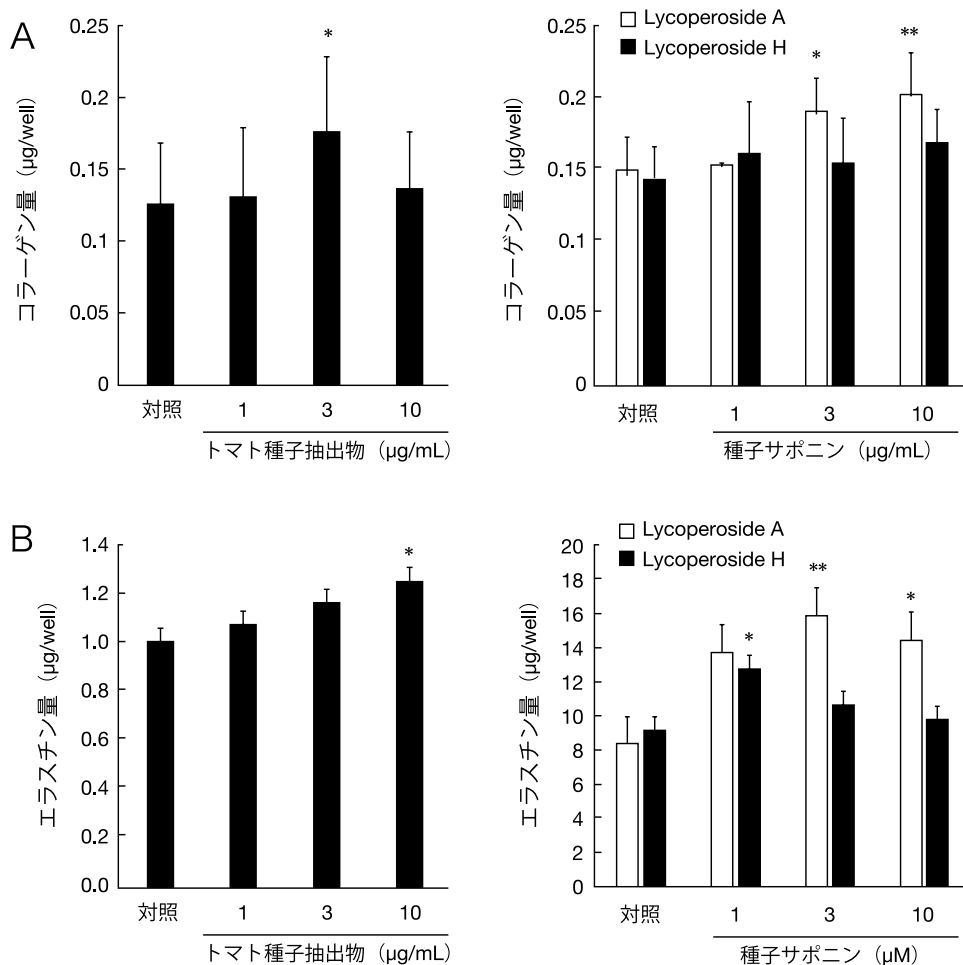


図3 トマト種子抽出物および含有サポニンのコラーゲンおよびエラスチン産生量に及ぼす作用

A: コラーゲン産生量 B: エラスチン産生量

n = 4-6, 平均値±標準誤差, *, $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnnett 検定)

また、トマト種子抽出物 (10 $\mu\text{g/mL}$), lycoperoside A (3 および 10 μM) および lycoperoside H (1 μM) の添加により、有意なエラスチン産生の増加が確認された (図 3B)。サンプルの添加による細胞毒性は見られなかった。

3. 皮膚細胞外マトリックスに及ぼす作用

前項の実験結果より、トマト種子サポニンには皮膚線維芽細胞におけるコラーゲンおよびエラスチンの産生促進作用があることがわかった。コラーゲンやエラスチンは線維芽細胞によって産生され、その

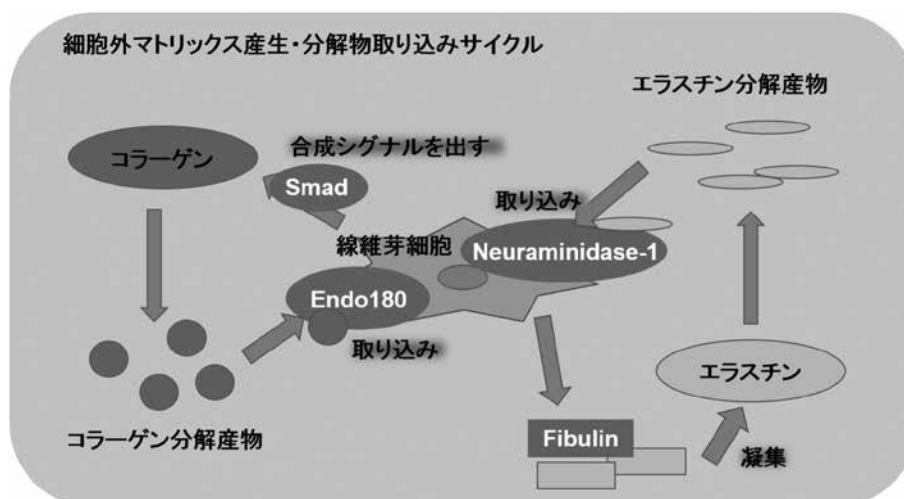


図4 皮膚細胞外マトリックスにおけるコラーゲンおよびエラスチンの産生・取り込みサイクルイメージ

分解産物は再び繊維芽細胞に吸収されるサイクルをとっていることが知られている (図 4)。コラーゲン産生は, smad と呼ばれるタンパクからのシグナル伝達によって行われ, 産生された後に古くなったコラーゲンは endo180 と呼ばれるタンパクによって繊維芽細胞内に取り込まれて分解される^{7,9)}。一方, エラスチンは fibulin タンパクの会合を経て形成されることが知られており, エラスチン分解物はエラスチン分解物受容体によって繊維芽細胞に取り込まれ, この受容体では neuraminidase-1 が重要な役割を果たしている^{10,11)}。このようなコラーゲンおよびエラスチンの産生・取り込みサイクルが正しく維持されることによって細胞外マトリックスの恒常性が保たれている。しかし, このサイクルに異常をきたし, 分解産物が蓄積すると, 細胞形態の変質や皮膚中酸化ストレスの増加などが引き起こされる¹²⁾。よって, 細胞外マトリックスを構成するコラーゲンおよびエラスチンの産生・取り込みサイク

ルを正常に保つことは皮膚のコンディションを正常に保つうえで非常に重要と考えられる。そこで, lycoperoside A および H のコラーゲンおよびエラスチンの産生・分解に関与する遺伝子発現に及ぼす作用を評価した。

TIG-103 細胞を 12 ウェルプレートに 1.0×10^5 個 / ウェルの細胞濃度で播種し, 1 日間培養した。培養後の細胞にトマト種子抽出物 (1, 3 および 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), lycoperoside A または H (1, 3 および 10 μM) を添加し, 2 日間培養した。培養後の細胞から RNA を抽出し, リアルタイム RT-PCR 法によって各遺伝子の発現量を評価した。実験の結果, コラーゲンの産生に関与する smad 遺伝子は lycoperoside A の添加 (3 および 10 μM) で有意に発現が増加した (図 5A)。また, 分解されたコラーゲンの取り込みに関与する endo180 遺伝子はトマト種子抽出物の添加 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) および lycoperoside A の添加 (3 μM) で有意に発現が増加した (図 5B)。また, エラスチンの

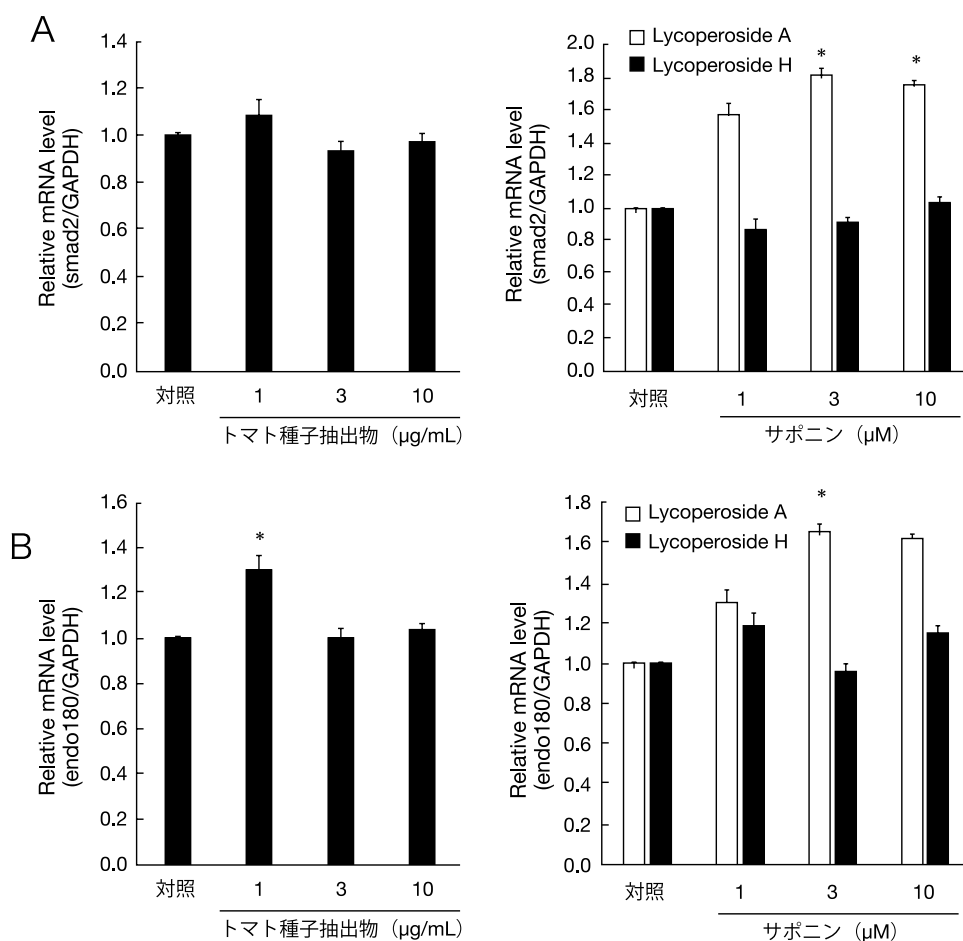


図 5 トマト種子抽出物および含有サポニンの smad および endo180 遺伝子発現に及ぼす作用

A : smad 遺伝子発現量 B : endo180 遺伝子発現量

n = 3-6, 平均値 ± 標準誤差, *; $P < 0.05$ (Dunnett 検定)

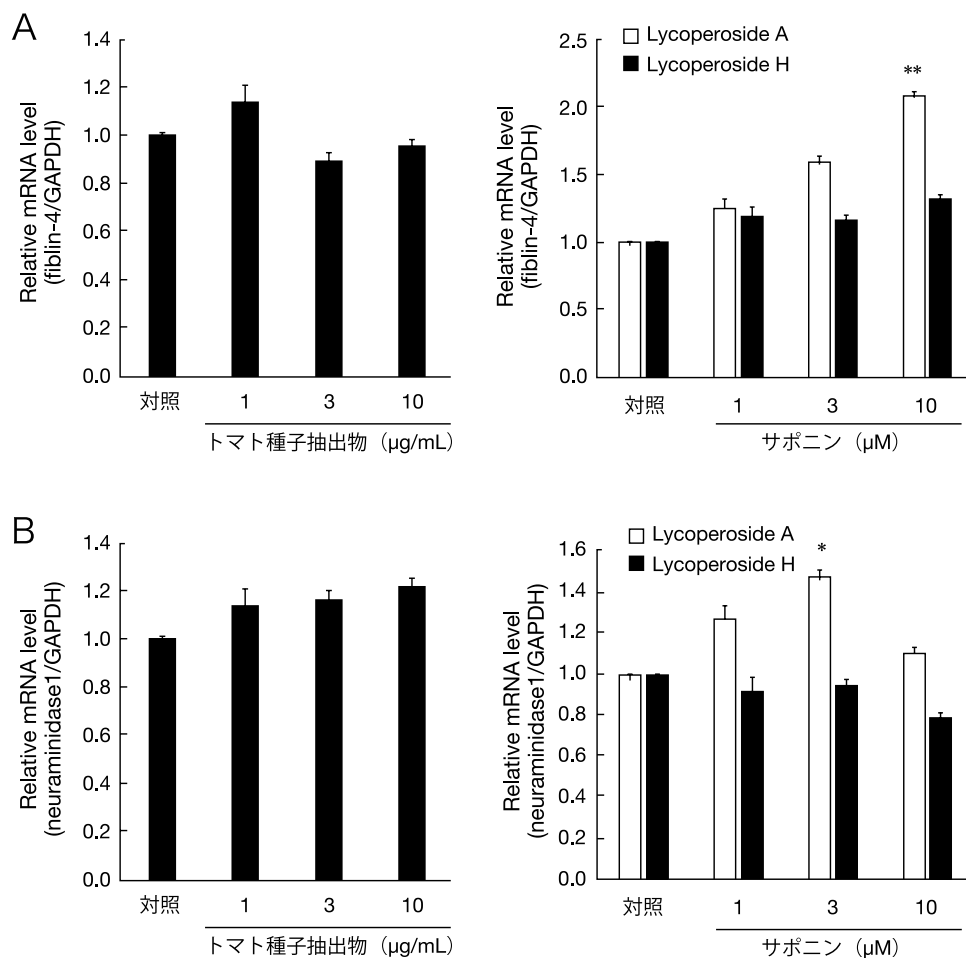


図6 トマト種子抽出物および含有サポニンの fibulin および neuraminidase-1 遺伝子発現に及ぼす作用
 A) fibulin 遺伝子発現量 B) neuraminidase-1 遺伝子発現量
 n = 4-6, 平均値±標準誤差, *; $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnett 検定)

産生に関与する fiblin 遺伝子は lycoperside A の添加 (10 μM) で有意に発現が増加した (図 6A)。そして、エラスチン分解産物の取り込みに関与する neuraminidase-1 遺伝子は lycoperside A の添加 (3 μM) で有意に発現が増加した (図 6B)。以上の結果から、トマト種子サポニンのうち lycoperside A はコラーゲンおよびエラスチンの産生・分解を促進することで、細胞外マトリックスの恒常性を維持する作用があることがわかった。

おわりに

本稿では、弊社の製品である「トマト種子エキス」とその含有成分である2つのサポニンの皮膚細胞外マトリックスに与える影響について述べた。肌のしわ・たるみ改善に対する消費者のニーズは老若男女

問わず高まっており、明確なエビデンスに基づく素材を市場が求めるようになってきている。コラーゲンおよびエラスチンの量を増やす、あるいは補給するという点は注目されているが、それらが分解されて生成した老廃物を除去することも重要であるという点についてはあまり焦点が当てられていない。「トマト種子エキス」は、コラーゲンおよびエラスチンの産生を高めるだけでなく、それらの分解物の取り込みも高めることにより、皮膚細胞外マトリックスを常に正常な状態に保ち、しわ・たるみに代表される肌老化の防止、改善に貢献することができる素材である。このような機能性の特色から、コラーゲンやエラスチンの産生を高める他の機能性素材との組み合わせにも有効な素材であると考えられる。

参考文献

1. B. Krasnińska, *et al.*: Favourable hypotensive effect after standardised tomato extract treatment in hypertensive subjects at high cardiovascular risk: a randomised controlled trial *Kardiol. Pol.*, **76**(2): 388-395, 2018.
2. LC. Lee, *et al.*: Hypolipidemic effect of tomato juice in hamsters in high cholesterol diet-induced hyperlipidemia. *Nutrients.*, **7**(12): 10525-10537, 2015.
3. Y. Fujiwara, *et al.*: Tomato steroidal alkaloid glycosides, esculeosides A and B, from ripe fruits. *Tetrahedron*, **60** (22): 4915-4920, 2004.
4. M. Ono, *et al.*: Metabolism of tomato steroidal glycosides in humans. *Chem. Pharm. Bull.*, **54**(2): 1312-1314, 2006.
5. T. Nohara *et al.*: Efficacy of tomato-saponin, escleoside A. *J. Trad. Med.*, **27**(5): 217-224, 2010.
6. T. Morikawa, *et al.*: Oleanane-type triterpene saponins with collagen synthesis-promoting activities from the flowers of *Bellis perennis*. *Phytochemistry*, **116**(8): 203-212, 2015.
7. F. Verrecchia, A. Mauviel, D. Farge: Transforming growth factor- β signaling through the Smad proteins: Role in systemic sclerosis *Autoimmun. Rev.*, **5**(7): 563-569, 2006.
8. F. Verrecchia, A. Mauviel: Transforming growth factor-beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J. Invest. Dermatol.*, **118**(2): 211-215, 2002.
9. N. Behrendt, *et al.*: A Urokinase receptor-associated protein with specific collagen binding properties *J. Biol Chem.*, **275**(3): 1993-2002, 2000.
10. A. Scandolera, *et al.*: The elastin receptor complex: a unique matricellular receptor with high anti-tumoral potential. *Front Pharmacol.*, **7**(3): 1-10, 2016.
11. CL. Papke, H. Yamagishi: Fibulin-4 and Fibulin-5 in elastogenesis and beyond: insights from mouse and human studies. *Matrix Biol.*, **1**(7): 142-149, 2014.
12. GJ. Fisher, *et al.*: Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. *Am. J. Pathol.*, **174**(1): 101-114, 2009.

機能性表示食品システマティックレビュー完了素材
複数ラインアップ!

自然と化学の融合で、
未知の可能性を未来のために。



- こめ油事業
- 機能性食品・化粧品素材事業
- 肥料・飼料事業
- OEM 事業
- 受託加工検査事業



私たちオリザ油化株式会社は、自然界の生理活性機能に着目し、素材の中に存在する未知なる力を引き出して人々の健康に生かす取り組みを続けています。「食べる」「肌に塗る」「土に返す」といった原始的な発想で検証し、21世紀の最新技術を使って実用化する。自然界の一部として生きる我々人間のために、『自然の力』を利用した健康づくりこそ、私たちが追及し続けるものです。

ヒト臨床データが豊富な素材を多数揃えています

Oryza **オリザ油化株式会社**

〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田1番地
TEL:0586-86-5141(代) FAX:0586-86-6191
<http://www.oryza.co.jp/>

※研究データおよび臨床データの提供が可能です。



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)

フキ *Petasites japonicus* (Siebold et Zucc.) Maxim. subsp. *japonicus*
(キク科: Compositae APG 体系: Asteraceae)

連絡先: 城西大学薬学部生薬学教室
shiratak@josai.ac.jp

弥生3月, 淡い黄緑色の「ふきのとう」が土の上に顔を出し, まるで, 春の訪れを告げるかのようです。フキ(蔞, 冬, 款冬, 菜蔞)は, 日本原産の多年草で北海道, 本州, 四国, 九州及び沖縄に分布し, サハリンから朝鮮半島や中国大陸でも見られます。山では沢の斜面, 河川の中洲や川岸, 林の際などでよく見られ, 郊外でも, あたりに水の豊富な土手などに自生します。早春, 葉が出るより先に花茎が伸び出し, これをフキノトウ(蔞の^{ふき}とう)とよび, 独特の香りと苦味のあることから, 山菜として珍重されます。薬用には, フキノトウがまだ蕾の頃, 取って陰干にし, 鎮咳, 去痰, 苦味健胃薬とします。日本古来の本草家は^{かんとう}款冬の基原



写真1 フキノトウ



写真2 フキノトウ (雄花)



写真3 フキノトウ (雌花)



写真4 生薬: ワカントウカ (和款冬花)

をフキにあててきましたが、これは、誤りで、中国では、フキタンポポ *Tussilago farfara* の花蕾をカントウカ（款冬花, Farfarae Flos）といい、射干麻黄湯、款冬花散などに用いてきました。フキノトウは和款冬花といい、フキの幼若な花茎を乾燥したものとされます。成分としては、quercetin, kaempferol, angelic acid, 苦味質、精油などが報告されています。フキは雌雄異株で、早春に根茎から花茎を出し、雄花は白黄色、雌花は白色で受粉後、花茎を伸ばし、タンポポのような綿毛をつけた種子を飛ばします。開花時の草丈は5～10cmですが、結実時の草丈は80cmにもなります。茎は地上には伸びず、地中で横に伸びていきます。地



写真5 フキ（葉）



写真6 フキ（愛知早生フキ）



写真7 フキノトウ（天ぷら）



写真8 フキノトウ（ふきのとう味噌）



写真9 フキ（煮物）



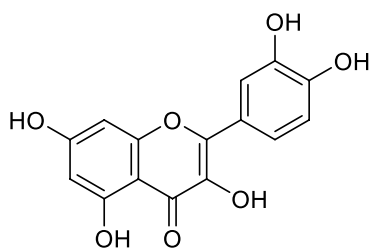
写真10 キャラブキ（伽羅薺）



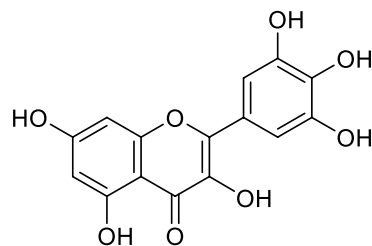
写真 11 フキタンポポ (花)



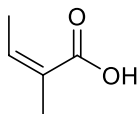
写真 12 ツワブキ (花)



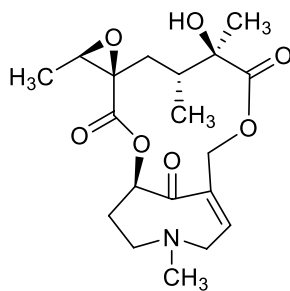
quercetin



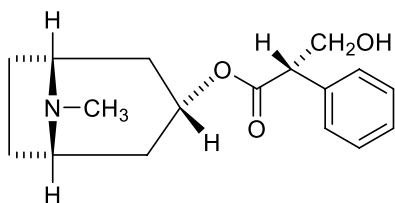
kaempferol



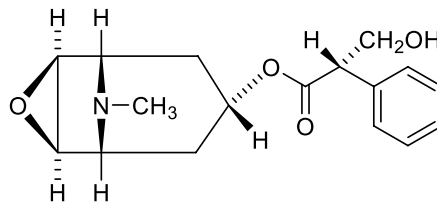
angelic acid



petasitenine



(-)-hyoscyamine
((±) 体 : atropine)



(-)-scopolamine

図1 成分の構造式



写真13 ハシリドコロ（芽生え）

下茎が地表にむき出しになると光合成のため緑色に変色し、ワサビ *Eutrema japonicum* (*Wasabia japonica*) と間違われることがありますが、フキの地下茎は有毒なので要注意です。フキノトウやフキの葉柄、葉は食用とされますが、ピロリジジンアルカロイドの petasitenine などを含み、灰汁^{あじ}抜きをする必要があります。フキノトウは蕾の状態^{しおめか}で採取され、天ぷらや煮物、味噌汁、ふきのとう味噌などに調理して食べられます。フキの葉柄は、重曹 (NaHCO_3) や木の灰などを入れた熱湯で灰汁^{あじ}を抜き、煮物や炒め物などにするか、生のまま塩や塩糠に漬け込んで保存し、調理前に煮てから流水で塩抜きし、同様に煮物や炒め物^{きやぶき}にします。また、佃煮にしたものは伽羅路^{きやらぶき}といい、

保存食・常備菜とします。現在、市場に出回っているフキの多くは愛知早生フキという三倍体の品種で愛知県東海市が生産量日本一です。関東以北には、高さ2mほどにも伸びるアキタブキ *P. japonicus* ssp. *giganteus* があり、特に北海道足寄町に産するものは、ラワンブキ（螺湾路）とよばれ、高さ2～3mにも達し、北海道遺産に指定されています。フキによく似た植物として葉が常緑で厚みと艶があり、秋～冬に黄色い花の咲くツワブキ *Farfugium japonicum* があり、フキと同様、葉柄は食用になります。特に、採集時に最も注意しなければいけない植物として有毒植物のハシリドコロ *Scoporia japonica*（ナス科）があります。副交感神経遮断作用のある (–)-hyoscyamine (hyoscyamine のラセミ体 (±体) が atropine), (–)-scopolamine などを含み、新芽の出る時期が重なるうえに外見が似ているため間違いやすく危険です。

白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸
カルシウム
とは？

古くから食品に使用されている安全性・吸収性に優れたカルシウム源です。
用途も栄養強化はもちろんのこと、練製品の弾力増強などの品質改良、粉体の流動性向上・固結防止といった加工助剤などその目的は多彩です。

分散性・混合性に優れたものや、飲料用として沈殿を抑制したタイプ等、品揃えしております。

一般の栄養強化には「ホワイトン」

機能を求めるならば「コロカルソ」

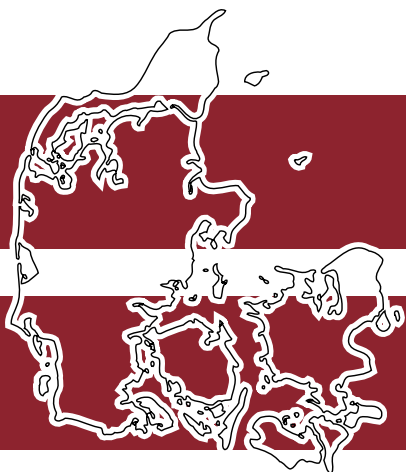
飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」

詳細につきましては弊社営業担当にお気軽にお尋ねください。



白石カルシウム株式会社

食品部：東京都千代田区岩本町1-1-8 TEL03-3863-8913
本社：大阪市北区中之島2-2-7 TEL06-6231-8265



◆ デンマーク通信 ◆

Naoko Ryde Nishioka

デンマークの Flødeboller

今回はデンマークでよく見るお菓子、Flødeboller を紹介します。

Flødeboller（フルーボラ）は、Fløde がホイップクリームで、boller がブレッドロール、パンを意味するので、生クリームパンというような意味をもつ言葉です。実際の Flødeboller は、卵の白身と砂糖がクリーム状になったものをマジパンの土台にのせて、丸い形にしてチョコレートでコーティングしてあるものが普通ですが、土台がマジパンではなくナッツでできているものや、中のクリームにフルーツのフレーバーがあったり、チョコレートのコーティングの上にココナッツの粉をまぶしてあるものなど、バリエーションは様々です。通常はダークチョコレートでコーティングされているため、見かけは真っ黒な巨大なチョコレートのように見えますが、手に取ると軽く、中身がチョコレートではなく、泡立ててある白いクリームであることがわかります。大きさは、5センチくらいの高さのものが多いですが、高級メーカーなどの Flødeboller は小さく上品に小ぶりです。



見かけは大きなチョコレートの様

Flødeboller の味ですが、周りのチョコレートも中のクリームも甘いので、とにかく甘いお菓子というのが第一印象ではないでしょうか。マシュマロがトロツとしたものにチョコレートがコーティングされているよ



Flødeboller の中身はトロツと甘いクリーム



イベントの食事のデザートの一つとして Flødeboller が出ることも多い

うな味です。クリームはトロっとしていて軽いのですが、甘さが強いので、食べたあともずっしり甘さが口の中に残ります。そんなこともあってか、高級メーカーなどが出している Flødeboller は、やや小ぶりで、上品な甘さのものもあります。

Flødeboller は、誕生日会や、お祝い行事、デザート、おやつ、お土産、ギフト、などなど、多様な使い方をされているお菓子で、デンマークで生活していると様々な場面で見かけることができます。面白い使い方としては、Flødeboller がアイスクリームのトッピングに選べることも多くあることです。アイスクリームを買う際に、生クリームをトッピングしたり、チョコレートチップをトッピングするような感覚で、Flødeboller をドカンとアイスの上にのせます。Flødeboller もアイスも生クリームものったアイスは豪華ですが、カロリーの方もかなり高くなること間違いなしでしょう。



スーパーで売っている量販品の Flødeboller

Flødeboller は普通のスーパーで手軽に買うことができます。日持ちがするように製造されパッケージされている量販品は、6 個入りで 300 ～ 400 円くらいで買えます。一方高級お菓子メーカーの Flødeboller は、小ぶりで小さいものが 6 個入って、1000 円以上します。例えば、日本にも進出しているデンマークのお菓子メーカー、サマーバードオーガニックの Flødeboller は、見ても食べてもおいしい Flødeboller を出していますが、価格は高めなので、家で食べるというよりは、ギフト用に購入する人が多いようです。サマーバード (<https://www.summerbird.jp/shop/>) 日本では、Flødeboller はクリームキス、という名称で販売されています。フレーバーも様々で、全てオーガニックな食材を使用して作られているので、価格も高くなりますが、とても美味しいので、試してみる価値はあると思います。

デンマークからのお土産に Flødeboller は面白いチョイスかもしれませんが、一つ気になることは、チョコレートコーティングがしっかり密着している場合は、飛行機にのると、気圧でチョコレートが爆発する可能性があることです。そんな心配もありますが、デンマークの街角で見かけたら、ぜひ一度試してみると、デンマークのお菓子事情を垣間みることができるかもしれません。

Chinese yam for medicine and food

Haixia Shi¹ and Hiroshi Sakagami²

Key Words: Yam, *Dioscorea rhizoma*, Indications, Effects, Functionality

Chinese yam (*Rhizoma Dioscoreae*) : *Dioscorea Rhizoma* is the root of *Dioscorea opposita* Thunb. which is distributed into North Korea, Japan and China¹⁾. Kou Zongshuang of the Song Dynasty wrote in "The meaning of the grass": "Yam, whose real name is *Dioscorea*, was renamed Yam because of avoiding the taboo by emperor Yingzong of Song Dynasty (Shu) and emperor Daizong of Tang Dynasty (Yu)." Yam is a kind of twining herbaceous liana, which grows in the bush or weeds along the stream and road, or under the forest of hillside and valley. Its tubers are long and cylindrical, and grow vertically, with stems usually purplish red, right-handed and glabrous, simple leaves, alternate in lower part of stem, opposites above middle. Male inflorescences are

spikes, 2-8 cm in length, nearly erect, and are inserted in the axils of leaves. Capsules are not reflexed, while seeds are born in the middle of each central axis. Yam flowers from June to September and makes fruits from July to November²⁾.

Edible: The tuber is rich in starch and can be used for vegetables, as blueberry yam (A), wire drawing yam (B) and yam rib soup (C) (**Figure 1**).

Medicinal: After the stems and leaves wither in winter, we excavate, cut off the roots, wash, remove the outer skin and fibrous roots, and dry, to produce "hair yam"(B); Or we remove the skin, cut thick slices while fresh, and



Figure 1. Usage of yam in blueberry (A), wire drawing yam (B) and rib soup (C).



Figure 2. The stems and leaves (A), the roots (B) and slices of peeled roots (C) of yam for medical use.

¹ Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, P.R. China e-mail: haixia.0101@163.com

² Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO), Saitama, Japan

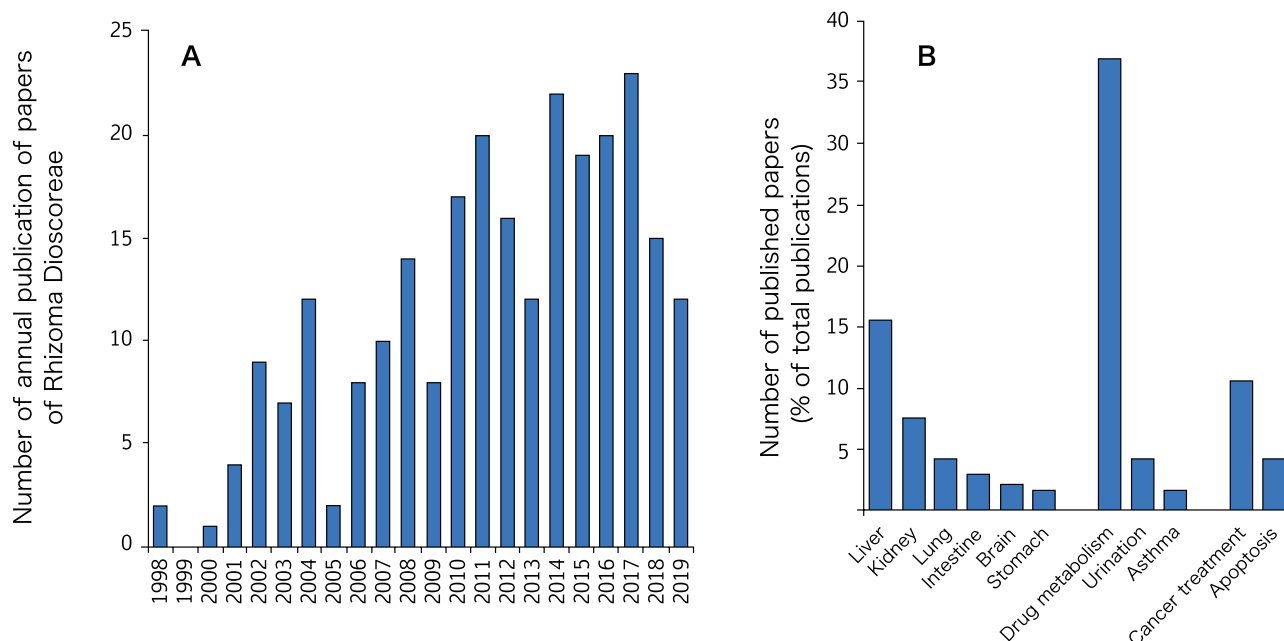


Figure 3. Number of annual publication of papers about Rhizoma Dioscoreae (or Dioscorea Rhizoma) (A) and most popular research subject (indicated as % of total 236 publications) (B) (based on the pubmed search on February 1, 2020)

dry, to produced "slices of Chinese yam"; There is also a choice of plump and straight dry yam. We place it in clean water and immerse it to be wet to the core, cut at both ends, rub it into a cylindrical shape with a wooden board, dry it and then polish it, to produce "light yam"(C) (Figure 2).

Property and flavor: The Chinese yam is sweet and gentle, acts on the spleen, lung and kidney channel.

Functions of curing: The Chinese yam can nourish the spleen and stomach, promote the secretion of saliva or body fluid, promoting lung function, tonifying kidney and astringent essence. It is used for reduced diet due to spleen deficiency, chronic diarrhea, cough and asthma caused by deficiency of lung, nocturnal emission,

frequent urination, and morbid leukorrhea in women due to kidney deficiency, symptom-complex of excessive eating, drinking and urine caused by deficiency. Stir fried yam with bran to nourish the spleen and stomach. It is used for reducing the diet of spleen deficiency, diarrhea and excessive leucorrhea.

Usage and dosage: 15~30 g/day. Decoction orally.

Storage: Place in a ventilated and dry place and antimoth.

Pubmed search revealed that number of publications of Rhizoma Dioscoreae (or Dioscorea Rhizoma) increased year by year (A), and many researchers focused on the liver and kidney (especially the drug metabolism and urination), as well as the cancer treatment and apoptosis induction (Figure 3).

References:

1. Chinese pharmacopoeia. Part 1[s]: 28-29. 2015.
2. Plant intelligence. www.iplant.cn

Chinese Medicinal Food

中国医食レポート 和訳

中国ヤムの医療および食材としての応用

史海霞¹, 坂上 宏²

Key Words: サンヤク, 生薬, 効能・効果, 機能性

サンヤク(生薬和名:山薬, 生薬英名:*Dioscorea Rhizome*, 英名:Chinese yam はナガイモの根茎であり, 北朝鮮, 日本, 中国に分布する¹⁾。宋王朝(960年 - 1279年)の寇宗奭^{こうそうせき}は、「本草衍義」で次のように書いている。「Yam」の正式な名称は, サンヤクであるが, 宋王朝の第5代皇帝の英宗(1032 - 1067)と唐朝の第11代皇帝の代宗(727 - 779)によるタブーを避けるためにヤムと名称変更した。ヤムは巻き付いて伸びる蔓性植物の一種で, 小川や道のそばの藪や雑草の中や, あるいは丘の中腹や谷の森の中で生育する。塊茎は長い円筒形で, 垂直に成長する。茎は通常赤紫色, 右巻き, 無毛, 単葉, 茎の下部が互生, 中央の上部が対生である。雄性の花序は, 2 ~ 8 cm の長さのスパイクで, ほぼ直立しており, 葉軸に挿入される。蒴果は反り返らず, 種子は各中心軸の中央にできる。6月から9月に開花し, 7月から11月に果実となる²⁾。

食用: 塊茎はデンプンが豊富で, 野菜として使用できる。

例: ブルーベリーヤム (A), 砂糖をまぶして炒めたヤム (B), ヤム肋骨スープ (C) など (図1)。

薬用: 冬に茎と葉が枯れた後, 発掘し, 根を切り取り, 洗浄し, 外側の皮と繊維状の根を取り除き, 乾燥させると, いわゆる「毛ヤム」ができて上がる (B)。あるいは, 皮を剥き, 新鮮なうちに厚切りにして, 乾燥させると, 「中国ヤムのスライス」が出来上がる (C) (図2)。

ふっくらとストレートな乾燥したヤムを選択することもできる。ヤムをきれいな水に入れて芯まで湿らし, 両端を切り, 木の板でこすって円筒状にし, 乾燥させて磨けば, いわゆる「ライトヤム」が出来上がる。

性質と風味: 中国のヤムは, 甘く, そして穏やかに, 脾臓, 肺, 腎臓のチャネルに作用する。

治療の機能: 中国のヤムは, 脾臓と胃に栄養を与え, 唾液または体液の分泌を促進し, 肺機能を促進し, 腎臓と収れん性を強化する。

ヤムは, 脾臓不全による食事摂取量の低下, 慢性下痢, 肺不全による咳と喘息, 腎不全による副腎虚遺精, 夢精, 頻尿, および病的白癬, 過剰な食事, 飲酒, 排尿による症候群などに使われる。揚げヤマを bran (ふすま) でかき混ぜたものは, 脾臓と胃に栄養を与える。脾臓不全, 下痢, 過度な下り物 (おりもの) に対する食事を減らすために使われる。

使用法および適量: 毎日 15 ~ 30 g の煎じ薬を経口投与する。

保管: 換気の良い乾燥した場所に防虫剤を置いて保管すること。

最近, ヤムの Pubmed 検索を行ったところ, 肝臓や腎臓における薬物代謝, 癌の治療やアポトーシスに誘導に関する論文が増える傾向にあることが明らかになった (図3)。

¹ 上海交通大学医学院附属第9人民医院中医科、上海、中国 201900

² 明海大学歯科医学総合研究所 (M-RIO)

漢方の効能

Efficacy of traditional medicine “KAMPO”

細胞傷害性物質の除去およびティートリー精油の 配合によるマスティック薬効の増大の試み

Trial of enhancing the pharmacological efficacy of mastic by removal of
cytotoxic substances and inclusion of tea tree extract into the dentifrice

両角 旦 (MOROZUMI Akira)^{1*}, 渡辺 秀司 (WATANABE Shuji)^{2, 3}, 浜田 信城 (HAMADA Nobushiro)²,
鈴木 光雄 (SUZUKI Mitsuo)^{2, 4}, 遠山 歳三 (TOYAMA Toshizo)^{2, 5}, 佐々木 悠 (SASAKI Haruka)²,
鈴木 直美 (SUZUKI Naomi)⁷, 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)⁶

¹ もろずみ歯科 (神奈川県川崎市宮前区宮前平 1-3-1 白水ビル 1F)

² 神奈川歯科大学 口腔科学講座 微生物感染学分野 (神奈川県横須賀市稲岡町 82)

³ とつかグリーン歯科医院 (神奈川県横浜市戸塚区汲沢 1-10-46 踊場メディカルセンター 4F)

⁴ デンタル デザイン クリニック (東京都港区北青山 3-7-10 D2 Place 2F)

⁵ リーフデンタルクリニック (神奈川県横浜市金沢区泥亀 2-11-2 高波ビル 2F)

⁶ 明海大学歯科医学総合研究所 (埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

⁷ NARD アロマセラピー協会認定校アロマガーデン (神奈川県逗子市久木 8-9-29)

Key Words: マスティック, 分画, 薬理活性, 抜歯, インプラント, *Porphyromonas gingivalis*

Abstract

By removing the cytotoxic substance in the mastic resin, the specific activity of antibacterial, antitumor and anti-herpesvirus potential was increased, and the inhibitory activity against drug metabolizing enzyme CYP3A was reduced. Removal of cytotoxic substances will contribute to the efficient expression of biological activity and improve the safety of mastic. We have developed a dentifrice that contains mastic resin and tea tree (an insoluble oil extracted from the leaves of Australian trees). We present here the clinical case report with this dentifrice.

要旨

マスティック樹脂に含まれる細胞傷害性物質を除去することにより, 抗菌活性, 口腔扁平上皮癌細胞に対する選択毒性, 抗ヘルペスウイルス活性の比活性が上昇し, 薬物代謝酵素に対する阻害活性が緩和した。細胞傷害性物質の除去は, 生物活性の効率的な発現と安全性の向上に寄与した。我々は, マスティック樹脂とティートリー (オーストラリア産の木の葉から抽出した不溶性のオイル) を配合した歯磨剤を開発した。今回, その症例を報告する。

はじめに

マスティックは, ヒオス島南部に生育する *Pistacia lentiscus* var. Chia の樹液状の滲出液であり, *in vitro* においてはヒドロキシラジカル消去能, 抗菌作用, 骨髄性白血病に対する高い選択毒性を示し, 臨床では歯肉炎に対する改善効果を示す²⁾。マスティックに関する論文数は年々増加しており, 最近では, 毎年 100 編以上である (図 1A)。

Pubmed 検索 (2020.1.10 現在) すると, 過去 (1918 ~ 2020 年) の全論文 (1008 報) の中では, 抗酸化活性に関する論文が最も多く (202 報), 抗炎症作用 (84 報), 抗菌活性 (69 報), 抗腫瘍活性 (15 報, 抗白血病活性を調べた研究は 2 報^{3,4)}; 腫瘍選択性まで調べたのは 1 報³⁾), 抗ウイルス活性 (8 報), 抗齲蝕作用 (4 報) と続く。マスティックを含む歯磨剤に関する論文は, 我々の論文 1 報しか検出できなかった⁵⁾。

連絡先: 両角 旦 (MOROZUMI Akira)* もろずみ歯科 Email: morozumident@gmail.com

〒 216-0006 神奈川県川崎市宮前区宮前平 1 丁目 3-1 白水ビル 1F 電話: 044-855-1535

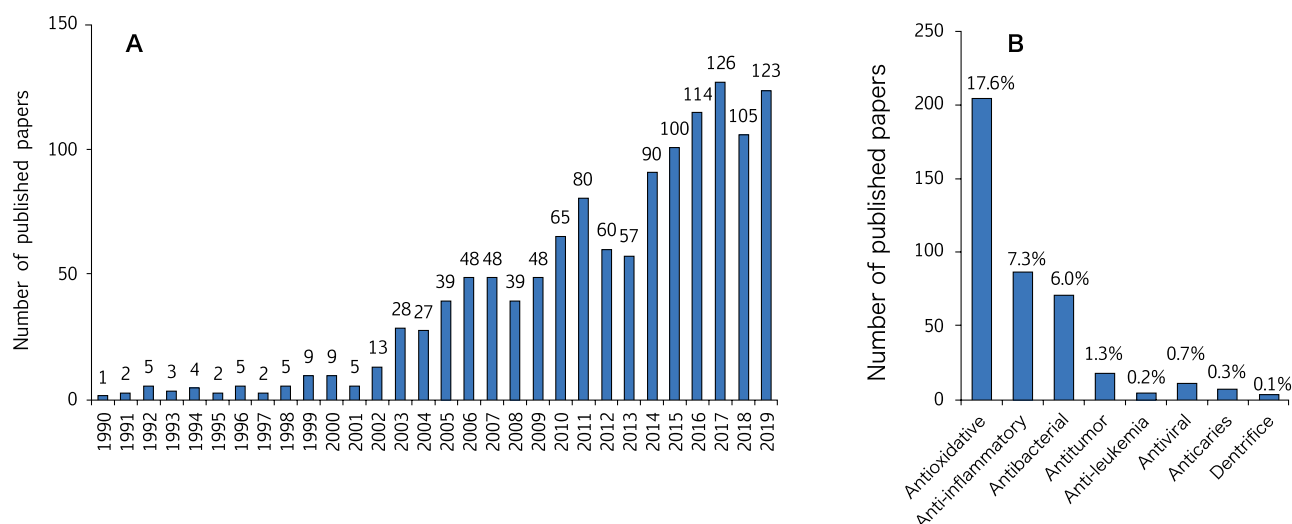


図1 マスティックに関する論文発表数の年次推移 (A) と項目別発表数 (数字は全論文数に対する %) (pubmed 検索, 2020 年 1 月 19 日)

表1 ヘキサン洗浄—酢酸エチル抽出による生物活性増強効果 (文献 6 を改変)

	抗菌活性 ^{a)}		腫瘍選択性 ^{b)}		抗 HSV 活性 ^{c)}		CYP3A4 阻害活性 ^{d)}	
		%		%		%		%
未分画マスティック	0.587	100	2.0	100	1.10	100	7.0	100
<i>n</i> -ヘキサン抽出物	0.030	5	1.4	68	0.79	72	32.2	460
<i>n</i> -ヘキサンで洗浄→酢酸エチル抽出物	0.813	139	2.6	128	1.50	136	6.8	97
<i>n</i> -ブタノール抽出物	0.034	6	2.3	112	0.85	77	8.3	119
メタノール抽出物 (冷浸)	0.050	9	2.5	122	0.95	86	24.4	349
メタノール抽出物 (還流)	0.063	11	2.2	105	0.96	87	4.1	59

- a) 抗菌活性は、ヒト口腔正常細胞 (歯肉線維芽細胞, 歯根膜線維芽細胞, 歯髓細胞) に対する CC_{50} 値の平均値を *Streptococcus mutans* に対する 50% 阻止濃度 (IC_{50} : $\mu\text{g/mL}$) で割って求めた。
- b) 腫瘍選択係数は、ヒト口腔正常細胞に対する 50% 細胞傷害濃度 (CC_{50}) の平均値を、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4) に対する CC_{50} の平均値で割って求めた。
- c) 抗 HSV (単純ヘルペスウイルス) 活性は、30 $\mu\text{g/mL}$ のサンプルを添加時の HSV 感染 Vero 細胞の生存率を、非感染細胞の生存率で除して求めた。
- d) CYP3A4 阻害活性は、100 を 50% 阻害濃度 ($\mu\text{g/mL}$) で除した値で表した。

2. マスティックに含まれる細胞傷害性物質の除去法

マスティックには、細胞傷害活性の強い成分を含有するため、重要な生物活性が定量的に充分回収できていない。そこで、種々の有機溶媒を用いて、細胞傷害性物質を取り除く方法を、三生製薬と城西大学薬学部の鈴木准教授とともに検討した。その結果、マスティックを *n*-ヘキサンで洗浄し、その後で酢酸エチルで抽出することにより、細胞傷害物質を効率よく除去し、より強い抗菌活性、抗腫瘍効果、抗 HSV 活性を回収すること、そして、CYP3A4 阻害効果を減弱させることができた (表 1)⁶⁾。興味深いことに、*n*-ヘキサン抽出液には、抗菌活性、抗腫瘍活性、抗 HSV 活性が弱く、CYP3A4 阻害活性が強い成分が含まれていることが分かる。酢酸エチル抽出物は、*Porphyromonas gingivalis* (IC_{50} =32.7 $\mu\text{g/mL}$) を最も強く傷害した。以下、*Streptococcus mutans* (IC_{50} =104 $\mu\text{g/mL}$)、*Staphylococcus aureus* (IC_{50} =609.4 $\mu\text{g/mL}$)、*Fusobacterium nucleatum* (IC_{50} =759.6 $\mu\text{g/mL}$)、*Escherichia coli* (IC_{50} =907.4 $\mu\text{g/mL}$) の順に感受性が低下した⁶⁾。

3. プライマリケアを目的とした歯磨剤 (Mastic Tea Tree Plus gel) の開発

高齢者社会を迎え、病気の予防、治療に関わるプライマリケアの重要性が注目され、その情報も最近目につくようになってきた。しかし、既にこれは 1978 年にプライマリヘルスケア「アルタ、マタ宣言」とし

て WHO で採択されている。この会議は全ての人に必要とする医療と高い保険医療サービスを受ける権利がある世界戦略として打ち出された。2018 年にはカザフスタン共和国でユニセフ主催「プライマリケアに関する国際会議; アルタマタ」が開催された。

高齢者では、全身および各臓器において、生理機能が低下し（表 2）、各種老化マーカーが発現する（表 3）。自立した生活を送る上で、清潔で充実した口腔機能および口腔環境の維持が益々必要になってくる。

これからの歯科医療は口腔領域のみでなく、全身疾患との関連の知識を習得し、患者が現在罹患している病気、病歴、服用している薬品の種類、量、アレルギーの有無等を理解し、さらに認知等を把握して患者、家族と協力して治療に関わらなくてはならない。また、メンテナンスにおいても抗生物質や抗菌薬の過剰摂取による菌交代症等が原因で肺炎等、免疫動態の低下からくる疾患が注目されており、患者の高齢化現象により更なる増加が予想される。口腔環境は細菌と生体応答のバランスと理解されるが、そのプラークコントロールに使用される歯磨剤には、天然および合成抗生物質が含まれている。高齢者では、合併疾患数の増加に伴い、服用薬剤数が増加する。その結果、薬物有害事象の発生も増加する。また、三環系抗うつ薬、パーキンソン病治療薬（抗コリン薬）、オキシブチニン（経口）（頻尿治療剤）、H1 受容体拮抗薬（第 1 世代）などは唾液分泌を抑制し、口渇を引き起こす。これらのリスクの軽減に対応する歯磨剤の開発が必要と考えた。そこで我々は天然物マスティック樹脂に着目し、マスティック臨床研究会を立ち上げ、マスティックを使用

表 2 高齢者における薬物動態

全身	基礎代謝率の低下 代謝能の低下→薬効・副作用の増強、持続時間の延長 脂肪組織の増加→脂溶性薬物の分布容積の増加→脂肪組織へ蓄積 水溶性薬物の分布容積の減少→水溶性薬物の血中濃度の上昇 AGEs (Advanced Glycation End Products) の蓄積
腎臓	腎臓の長径・大きさの減少 小動脈内膜の肥厚 糸球体を介さない輸入動脈から輸出動脈への血液の短絡 ネフロンの硬化と数の減少 糸球体濾過速度および尿細管分泌能の低下 薬物の腎クリアランスの低下 腎血漿流量の減少 尿濃縮・希釈能の減少、尿浸透圧の低下
肝臓	肝重量の減少（約 20~30% 程度） 肝血液量の減少（約 20~50% 程度） アルブミン合成の低下（40 歳頃から）
肺	肺活量、最大換気量の低下 喫煙が原因の COPD（慢性閉塞性肺疾患）傾向の加速
脳	神経細胞数の減少、萎縮 神経伝達速度の低下 記憶力低下によるもの忘れ
骨	骨粗鬆症：特に女性に多い。40 代における急激な卵胞の減少、エストラジオールの低下に伴う骨梁の減少
心臓	心拍出量の低下 重量の増加 心筋細胞の肥大化、心筋細胞数の低下、線維芽細胞の増加 弁の肥厚・硬化・変形 リポフスチンの沈着→ミトコンドリア DNA 異常や酸化ストレスによる機能低下
血管	動脈硬化の進行 内頸動脈の血管内膜の肥厚、腹部大動脈の血管が太くなる 血管の硬化→脈波速度（血管の中を伝わる血液の速度）の上昇。
味蕾の数	約 1/10 まで低下（12 歳で約 40,000 個、80 歳で約 4,000 個）

表3 老化マーカー

採取部位	マーカー
唾液	唾液量の低下 カンジダ菌の増加 コエンザイム Q ₁₀ の低下 グリシンの増加
歯	アミノ酸のラセミ化 (L-アミノ酸→D-アミノ酸) の増加 デヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEA-S) の低下
血液	血清アルブミンの低下
尿	8-オキシデオキシグアニンの増加
腎臓	ペントシジン (AGE の代表) の増加 SABG (senescence-associated β -galactosidase) 陽性尿細管の増加 抗糖化ストレス酵素グリオキサラーゼ I の活性低下
タンパク質	タンパク質のカルボニル化
線虫 (モデル)	Sirt1 の不活化 N-Eicosapentaenoylethanolamine の増加

した種々の製品開発に携わってきた。我々は、マスティックにティートリーを配合した歯磨剤（製品名マスティックティートリープラス）を開発した（図2）。ティートリーはオーストラリア産の木の葉から抽出した不溶性のオイルで細菌、酵母、かび等、抗菌スペクトルが広い。特に真菌に有効である。オーストラリアではフェノールに比較し、殺菌能力が高いばかりでなく、毒性が少ないので歯科治療に使用されている。



図2 マスティックティートリープラス

4. マスティックティートリープラスを臨床とホームケアで使用し歯肉炎が改善した症例

臨床では、CO₂ レーザー、オゾン水、マスティック原液、抗生剤、消炎剤を使用する。マスティックオイルは松浦漢方製のヤシ油で抽出したオイル原液を使用した。最小発育阻止濃度（MIC）試験等で使用された高濃度のマスティック樹脂オイルだが、高い抗菌効果を有している。10年近く使用しているが副作用、アレルギー等の症状は全く無い。マスティック樹脂はギリシャのヒオス島で採取され、特に歯周病菌のようなグラム陰性菌に効果がある。それに対して一般的には歯科治療後の歯肉消毒はヨードグリコール（JG）が使用されるが、稀に軽い火傷を起こした症例も見受けられる。因みに JG はアレルギーにデリケートになった現在、使用禁止した小学校の保健室もある。さらに、プライマリケアを満足させる歯磨剤の開発にあたりマスティックの抗真菌効果を高めるため、ティートリー精油を配合した。この2種の配合は生体に安全で抗菌スペクトルが広い。そのため今回開発した歯磨剤はプライマリケアとして日常の口腔環境の維持と改善に適している^{7,8)}。

患者：1966.12.1 生 男性

主訴：4」（上顎右側第1小白歯）インプラント埋入しプロビジョナル装着後、臨在歯5」（上顎右側第2小白歯）の近心の歯肉腫脹と咬合痛あり。

経過：初診時の所見と審査、口腔内所見はプラーク付着は少なく、口腔環境は良好だが5」付近の歯肉に歯肉に歯ブラシによる擦過傷があり、感染原因と考える。X線検査では5」4」隣接に透過像を見る。歯肉の近

心は初診時腫脹顕著のためプロービング（プローブを使った歯周ポケットの診断）を行い評価した。（EPP; プローブを使った歯周ポケットスコアと BOP スコア; 出血の診査を行い, 5」近心ポケット 8mm, 出血評価 1 を確認した。動揺は生理的範囲内。隣接の 4」に位置するインプラントに咬合痛は無く, 遠心のポケットもプローブの黒い帯が見え, 概ね正常であった。）



図3 マスティックティートリープラス処理後の臨床所見

治療経過 オフィス

1 日目:

5」CO₂ レーザー 3W 連続波 30 秒照射。オゾン水で洗浄。マスティックオイル塗布, 抗生物質のサワシリン 250mg 1 カプセル, 消炎剤のロキソニン 60 mg 1 錠投与後マスティックティートリープラスをポケット内にシリンジで注入。

ホーム:

サワシリン 250 mg 1 カプセル ×3 回, ロキソニン 60 mg 1 錠 ×3 回, 毎食後 ×3 日分投与。

朝, 睡眠前, 食後 マスティックティートリープラスでブラッシング。

1 週間後:

5」咬合痛, 腫脹は概ね改善したが歯肉に発赤があり, 僅かに腫脹残存していた。オゾン水で洗浄。マスティックオイル塗布。マスティックティートリープラスを注入。EPP (歯周ポケットスコア) 遠心 4 mm, と縮小し BOP (歯肉出血スコア) 0 動揺は無く概ね改善した。更なる改善のためホームにて, 継続的にマスティックティートリープラスにてブラッシングを指導した。

(EPP, BOP の測定は プローブという審査器具を用いて歯肉ポケット内に挿入して計測する。ポケットは一般に 3.5 mm 以下は概ね正常の範囲とされ, 6 mm 以上は重度の歯周病に罹患していると評価される。プローブはポケット底を傷つけないように先端が 0.5 mm の球形になっている。先端から 3.5~5.5 mm の間に黒いバンドがあり, ポケットに入れた時, 黒いバンド位置を確認するだけでもポケットを評価できる。BOP はポケット内にプローブを挿入した後の出血の有無で評価する。{出血, 評価 1 非出血 0} プロービング検査は 20 g 以下の力で測定する。)

2 週間後:

腫脹は改善した。しかしながら急性症状を起こす前の 5」近心の歯肉の位置から 2mm 弱の退縮をみた。元々ポケットが深かったので現在の位置が正常とも考えられる。遠心の退縮は確認しなかった。動揺度に対しては生理的とはいえ初診時には僅かに感じたが全く無く, EPP, BOP の値は 1 週間めと変化無く良好を維持。ホームケアの指導としてティートリープラス歯磨きジェルを使用したブラッシング継続を再指導した。5」近心の歯周病は完治したと考えるが, 再感染しないよう定期的なリコールとプライマリケアは必要である。

おわりに

我々は, マスティック樹脂に含まれる細胞傷害性物質を除去することにより, 抗菌活性, 口腔扁平上皮癌細胞に対する選択毒性, 抗ヘルペスウイルス活性の比活性が上昇し, 薬物代謝酵素に対する阻害活性が緩和することを発見した (図 2) ⁶⁾。細胞傷害性物質の除去は, 生物活性の効率的な発現と安全性の向上に貢献するだろう。薬物代謝酵素阻害活性の緩和は, マスティックで誘発される副作用を軽減するだろう。

Porphyromonas gingivalis は, バイオフィルム ⁹⁾, インプラント周囲の微生物叢 ¹⁰⁾, 重度の歯周病患者の唾液 ¹¹⁾ や歯肉縁下プラークに分布している。マスティックの酢酸エチル抽出液は, 未分画材料よりも抗菌活

性が高いので、歯周病治療に応用できる可能性がある。

今後、細胞傷害性物質を除去したマスティックとティートリーとの併用効果についての更なる研究が必要である。

謝辞

プライマリケア用歯磨き剤のマスティックティートリープラス開発にあたっては NARD アロマセラピー協会認定アロマセラピスト・トレーナー鈴木直美氏の協力を得た。ここに記して感謝いたします。

参考文献

1. Kishino K, Sakagami H, Takahashi K, Watanabe S, Ikarashi T, Satoh K and Nakamura W: Biological evaluation of mastic for the oral health. Annual meeting IADR-Continental European and Israeli Divisions. September 2007, Thessaloniki.
2. 渡辺秀司, 両角旦, 高橋慶壮, 浜田信城, 鈴木光雄, 遠山歳三, 佐々木悠, 岡部葉子, 北原文子, 坂上宏: 漢方の効能, マスティック樹脂の薬理活性と臨床応用, *New Food Industry* **62**(2): 133-137, 2020.
3. Sakagami H, Kishino K, Kobayashi M, Hashimoto K, Shimetani A, Nakamura Y, Takahashi K, Ikarashi T, Fukamachi H, Satoh K, Nakashima H, Shimizu T, Takeda K, Watanabe S and Nakamura W: Selective anti-bacterial and apoptosis modulating activities of mastic. *In Vivo* **23**: 215-224, 2009. PMID: 19414406
4. Loutrari H, Magkouta S, Pyriochou A, Koika V, Kolisis FN, Papapetropoulos A and Roussos C: Mastic oil from *Pistacia Lentiscus* Var. Chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutr Cancer* **55**(1): 86-93, 2006. PMID: 16965245 DOI: 10.1207/s15327914nc5501_11
5. Watanabe S, Toyama T, Sato T, Suzuki M, Morozumi A, Sakagami H and Hamada N. Kampo therapies and the use of herbal medicines in the dentistry in Japan. *Medicines* 2019, **6**(1): 34; PMID: 30823475 DOI: 10.3390/medicines6010034
6. Suzuki R, Sakagami H, Amano S, Fukuchi K, Sunaga K, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Shirataki Y, Tomomura M, Masuda Y, Yokose S, Tomomura A, Watanabe H, Okawara M and Matahira Y: Evaluation of biological activity of mastic extracts based on chemotherapeutic indices. *In Vivo* **31**: 591-598, 2017. PMID: 28652425 DOI: 10.21873/in vivo.11099
7. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K and Kato T: A Comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol* **19**(1): 61-64, 2004. PMID: 14678476 DOI: 10.1046/j.0902-0055.2003.00111.x
8. 阿部 茂: アロマセラピーへの招待, 2006.
9. Kommerein N, Stumpp SN, Müsken M, Ehlert N, Winkel A, Häussler S, Behrens P, Buettner FF and Stiesch M: An oral multispecies biofilm model for high content screening applications. *PLoS One*. 2017 Mar 15; **12**(3): e0173973. DOI: 10.1371/journal.pone.0173973.
10. Herekar M, Sethi M, Prithviraj DR, Bhat K, Fernandes A and Patil V: A clinical study evaluating changes in the microbial flora around dental implants during various stages of implant restoration. *Implant Dent* **24**(5): 527-532, 2015. PMID: 25996787 DOI: 10.1097/ID.0000000000000273
11. Feng X, Zhu L, Xu L, Meng H, Zhang L, Ren X, Lu R, Tian Y, Shi D and Wang X: Distribution of 8 periodontal microorganisms in family members of Chinese patients with aggressive periodontitis. *Arch Oral Biol* **60**(3): 400-407, 2015. PMID: 25526624 DOI: 10.1016/j.archoralbio.2014.11.015

Importance of international communication skills

~ Experience and overview of a Mexican student in academic exchange at Meikai University

Ángel Paulino-González¹, Hiroshi Sakagami², René García-Contreras¹,
Yosuke Iijima³ and Masahiko Kobayashi⁴

Introduction

The world is currently in a fast interconnection that promotes the approach between cultures, countries, industries and universities. Japan and Mexico have a very close friendship that has become stronger in recent years in several fields. According to official reports, about 5,000 Japanese live in Mexico, 2,500 in the Bajío region and approximately 800 in Leon city, where the ENES University is located. In this region, many elementary and high schools include in their academic programs the learning of the Japanese language for their students, and many young people are so excited to learn it. Currently, Japanese citizens that live in Mexico have improved the economy of this region, and the contact and cultural interaction makes many young people of Mexico have a great curiosity, interest and respect for Japanese culture so it is a model for the Mexican people and they have the dream to visit there.

Among all things that Mexico admires Japan, Japanese education system always causes astonishment in many Mexican young people, giving them a dream to enter Japanese university.

The academic approach of countries in development pathways such as Mexico to world-widely recognized countries such as Japan, allows the personal and professional growth of students, learning in facts of similarities and dissimilarities strengthen the ties of

fraternity and respect. Some experiences of a Mexican student at the University of Meikai will be described.

Academic life in dentistry and research:

First, the minimum time required to become a dentist in Japan is 7 years, while that required to obtain the degree in Mexico is 5 years. In Japan, the students, especially those who prepare the national exam, study in the halls, cafeterias and library, many in groups and some only with themselves, this behavior is similar in Mexico during tests period. A day before the exam I could see how the teachers, family and friends motivate the students to pass the national exam and that was very exciting for me. In Mexico, the knowledge test is not mandatory for all universities, in some institutions, carrying out a thesis work is considered enough to obtain the degree. In the case of patient care, Japanese students can treat directly the patients only 6 years after the start of their studies, while in Mexico this activity begins in the second year of the college.

It is important to highlight that in Japan students from different disciplines and specialties are very eagerly engaged in research and training, while in Mexico, the number of people having interest in basic research is still low. The quality of the research carried out in different laboratories in Japan is of great value and impact. Mexico is under the profound influence of Japan

¹ENES-León, Universidad Nacional Autónoma de México, León, México.

²Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO), Saitama, Japan

³Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Saitama Medical Center, Saitama Medical University, Saitama, Japan

⁴Division of First Oral and Maxillofacial Surgery, Meikai University School of Dentistry, Saitama, Japan

Correspondence to: Ángel Paulino-González¹ e-mail: ad16eam@gmail.com

in the use of materials, equipment, devices and the search for innovative techniques for clinical practice. It is transcendental that in Japan many researchers give the importance and relevance to search for therapeutic alternatives to conditions such as stomatitis and the application of traditional medicine to solve health problems which have shown good results in different studies. Mexican people should learn how to improve and pay more attention to these branches because there are also several extracts of native plants with great benefits and properties to improve health. Japanese students are so resourceful, and they have multiple skills so they all become great professionals.

Sociability with students:

The respect, kindness and hospitality of Japanese students is something that made me feel very happy during my stay, the education that they showed was always wonderful. Human warmth is something that the rest of the world must learn from Japan. The interaction and rapprochement with the students are easy because they are very cooperative and available to teach and share their experiences. They all helped me and showed great empathy in all things. Although the communication was done in English, all students always showed a great interest in being able to teach me the Japanese language and this was a great motivation for me, and they showed curiosity about different topics of Mexico. I enjoyed it immensely and I was delighted to meet people with many skills and excellent smartness.

I think that I got along very well with women and men since they are all very accessible and noble, I was so excited to see that people show interest in my country and its traditions. I believe the essence of Japan and Mexico as countries, as nations, are very similar, because they are always willing to help in different situations. Although at first the personalities of the young people of both countries seem different, they have many similarities and the relationship of mutual trust increases day by day and allows a very enriching approach, listening to people's stories and experiences cultivates the human sense and produces values that are very useful and necessary for life.

Daily life:

Despite the distance between these countries, it is surprising that I always felt at home, all the people greeted cordially and asked me how I was and also about my research project, which made me feel very happy. Another aspect to highlight is punctuality and organization in all activities, everything is planned, and things go very well. On the other hand, the clean and quiet rivers and the amazing and beautiful landscapes around the Meikai University School of Dentistry (MU)

generate a positive impact on the mood in people and make all visitors very comfortable.

Foreign people are excited to observe the large and modern constructions converging with millenary temples and that conveys to us the deep respect that the country has for its history and culture an attachment to its roots, but with technological development in many fields to improve the quality of life from activities of daily living to fields such as science and medicine. Security and organization in the streets and institutions creates tranquility. I would like to make a special mention about the jogging with Prof. Sakagami around the Koma River in the early morning and listening to what he says. It is a special memory and great learning that I will always keep in my mind. Everything that other countries can learn from Japan is impressive.

Food:

Making a comparison between meals from Mexico and Japan is really complicated, mainly because both are very delicious and have a huge variety of recipes flavors, colors and smells. Both countries not only keep the millenary tradition of their cultures, but also accept the influence of new flavors from other parts of the world and introducing small changes without losing the essence of the original versions. The use of spice and salt, and the consistency of some dishes such as rice, egg and fish are some of the most significant variations. It is known that both countries have a diet based mainly on cereals such as rice and corn, respectively. The use of vegetables for food preparation is more common in Mexico which is easy to explain for geographical and climatic reasons. I enjoyed each of the foods that I could taste but especially new flavors for me, natto (fermented soybeans) was my favorite, which was curious for people because foreigners usually find it with a strong flavor, but I ate it 3 or 4 times a week. It was also very good for my health to take green tea continuously, because I felt energized and well hydrated all the time for demonstrating full power. In summary, the diet I took during my stay was very good, because I lost weight and was in better physical condition than when I arrived at Japan. The diet in Japan has a great influence on the aspect of population. They look very young and the life expectancy is very long, possibly due to higher consumption of various essential oils and many foods rich in antioxidants, as shown by many scientific articles.

Conclusion and future perspective

The collaboration with MU started when HS met Dean Rigoberto Garcia-Garduño of UAEM at 35th year anniversary and two visits of his son René García-Contreras to HS's laboratory to complete his master and doctoral thesis. RG became the professor of UNAM.

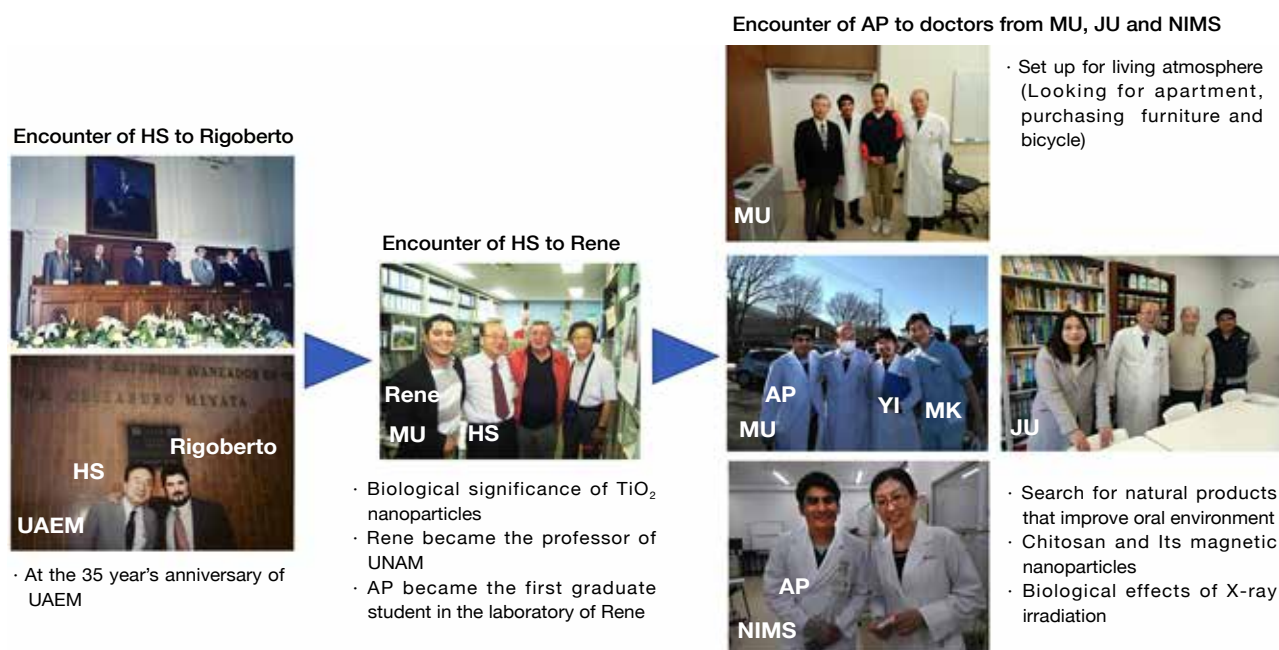


Figure 1. Establishment of academic collaboration between Mexico and Japan through sequential historical encounters over three generations.

AP became the first master student in the laboratory of RG, Angel Paulino-Gonzalez visited HS's laboratory for three months (2019). AP met many friendly doctors from MU, Josai University (JU) and Nihon Institute of Medical Science (NIMS), located nearby each other (**Figure1**). Multiple cross-linked activities established the international, multidisciplinary and friendship team. We share the global vision and focus on improving our academic and cultural exchange.

In summary, Japan and Mexico plan to strengthen

their networks in various fields in the coming years. Commercial, industrial, academic and research inter actions will undoubtedly be more numerous and beneficial for both countries. Cultural and human exchange favors nations in the search of a common goal: the prosperity and well-being of both populations. Collaboration networks are expected to allow more young Japanese to visit Mexico and young Mexicans to visit Japan and enjoy this valuable and so exciting experience.

www.newfoodindustry.com

ニューフードインダストリー 第62巻 第3号

印刷 令和 2 年 2 月 25 日

発行 令和 2 年 3 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 ○一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク

定 価 本体2,500円 + 税 (送料120円)

e-mail: newfood@newfoodindustry.com

New Food Industry 投稿規定

1. 本誌 New Food Industry は、食品に関する原著論文、総説、ノート、解説、特集原稿、国内新製品紹介、海外レポート、随想および各種研究会会告等を掲載します。
2. 投稿原稿は、日本語または英語を標準とし、欧語は使用しないでください。
和文原著論文、総説、ノート、解説には、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、次に英文タイトル、著者名、所属機関名（所在地）をつけ、本文の前に必ず7つ以内のキーワード（英語と日本語）を加える。原著論文、総説、ノートには、400 単語程度の英文 Abstract をつけます。また、総説、解説等については出来れば Graphic abstract で本文の概要を説明してください。
英文原稿には、7つ以内の英語のキーワード、末尾に、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、7つ以内の和文キーワードおよび和文要約を書き入れてください。
3. 原著論文、ノート、総説については編集委員会にて査読者を選出し査読を行います（総説は査読希望があるものについて査読をします）。また、研究解説、特集等に関しては各著者の責任において投稿いただきます。
査読される原著論文は、未発表の新規知見を含み食品科学・食品の機能性等の発展に寄与するものとし、ノートは、食品業界の発展に寄与する短報とします。総説はすでに発表されたもので新たに加筆、修正をし、食品科学の知見に基づいた機能、官能評価、開発のための価値の高い研究論文などを対象とします。また、研究論文の著者が複数の場合、その責任者（研究室長・教授）等の責任において発表し、査読希望の場合に限り査読を行います。
原稿の取扱い、編集委員会に一任され、査読を行う原稿は、編集委員会の判断で査読者を2人以上選出し掲載可の判断がされた後、編集作業にかかります。
4. 原稿はすべてA4ワードドキュメントに、和文は横書きで40字×35行、英文の場合は72字×35行を標準とします。
5. 論文の長さは、本誌印刷時に原著論文では8～12頁（ワード頁で10～20）以内、ノートでは4頁以内とします。
6. 和文原稿はひらがな、新仮名遣いとし、物質名や学術用語などに対して欧語を用いないこと。研究に用いた機器試薬名は一般名と商標登録名、メーカー名、所在地を記載します。
7. 本文および文献中の学名やジャーナル名はイタリック、ジャーナルの巻数はボールドとします。
8. 図・写真・表並びに説明文は、別稿で提出してください。
9. 図表の挿入希望位置は、原稿欄外に指示してください。
10. 数字はすべてアラビア数字を用い、数量の単位はSI単位を基本とする。単位および述語の略字例は次の通り。
km, m, cm, mm, L, mL, mg, g, kg, mol, mmol, mM, pH, b.p., f.p., MW, V, A, N, M, Rf 等
11. 引用文献は、本文中での引用順に片括弧付きの上付き番号を付して記載します。
12. 引用文献リストは、本文の後に番号順にまとめて記載します。
13. 原稿の校正は、初校・再校まで著者が行い、大幅な修正、加筆は不可。三校以降は希望があれば行います。
14. 掲載された論文は、論文公開検索システム等に採択されます。掲載論文の著作権は、エヌエフアイ合同会社に帰属します。
15. 掲載された論文は、出版元の許可を得れば頒布、複製、著者HPでの公開をしてもよい。



New Food Industry

エヌエフアイ合同会社

本社：〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302
電話 042-312-0836 FAX 042-312-0845

定価： 本体2,500円 十税
(送料120円)

雑誌 89591-3



4910895910307
02500