



その透きとおった肌のヒミツは、なに？



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

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

美容素材 **パイナップルセラミド**

パインセラ[®]

自然の恵みを運ぶ

食品営業部

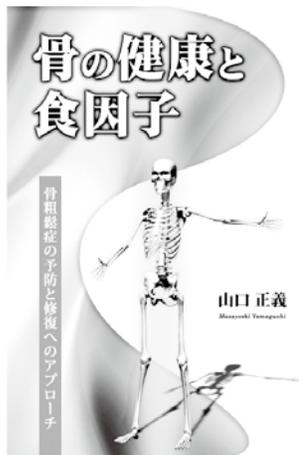
丸善製薬株式会社

【東京】東京食品課 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2-6-7 TEL.(03)3496-1521 FAX.(03)3496-1641

【大阪】大阪食品課 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町2-6-6(地野日生ビル6F) TEL.(06)6203-6918 FAX.(06)6233-3606 <http://www.maruzenpcy.co.jp>

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

シリーズ 健康食品の有効性・安全性評価におけるヒト試験の現状と課題

■ —統計学的観点から見たランダム化比較試験—

Current Status and Issues of Clinical Trials for Efficacy and Safety Evaluation of Health Foods
—Statistical analysis in randomized controlled trial—

鈴木 直子, 田中 瑞穂, 佐野 友紀, 柿沼 俊光, 馬場 亜沙美, 山本 和雄 467

解説

■ 地中海マルタ島産の天然海藻パディナ・パボニカの機能性

眞鍋 昇 477

研究解説

■ 漢方座浴 (YOSA-SHINY) に対する抗メタボリックシンドロームと 抗酸化作用に関する臨床研究

Clinical test related to bloodstream, anti-oxidant, anti-metabolic syndrome
in human by oriental medicine lust (YOSA-SHINY)

具 然和 483

解説

■ 松かさエキス配合試作品による単純ヘルペスウイルス感染性の抑制

Inhibition of herpes simplex virus infectivity by the prototype that contains pine cone extract

島田 明, 牧浦 啓輔, 山本 正次, 福地 邦彦, 坂上 宏 497

■ 紹興酒の熟成に伴うアミノ酸代謝物の組成変化

Changes in the concentrations of amino acid metabolites during
the maturation period of Shaoxing sake

鈴木 龍一郎, 佐野 愛子, 粕谷 優貴, 白瀧 義明, 坂上 宏, 宮田 順次 502

連載解説

■ 新解説 グルテンフリー製品への sorghum (モロコシ) と maize (トウモロコシ) の利用 (1)

瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 507

製品解説

- 紫茶エキスによる血管内皮依存性 NO 産生促進
およびトレーニング後の筋肉疲労改善作用

竹田 翔伍 514

伝える心・伝えられたもの

- —焼酎と焼酎蒸留器の話—

宮尾 茂雄 519

学術交流

- Studying abroad:perspectives of Japan's daily life

David Bautista-Martinez, Satoshi Yokose, Rogelio J. Scougall-Vilchis, Hiroshi Sakagami 531

連載 野山の花 —身近な山野草の食効・薬効—

- ハス *Nelumbo nucifera* Gaertn.
(スイレン科: Nymphaeaceae APG 体系: ハス科: Nelumbonaceae)

白滝 義明 536

連載 デンマークの通信

- デンマークのライ麦

Naoko Ryde Nishioka 540

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番ホピュラーな食べ方で、フチフチ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。

取扱い製品

◆キヌア粒

◆有機キヌア粒

現代チーズ学

編集

齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究所
 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



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4,500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
浦島 匡
六車三治男 |
| 5.2 機能性オリゴ糖 | |
| 5.3 機能性ホエイ味噌 | |
| 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 |

The Contemporary Cheese Science

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

—統計学的観点から見たランダム化比較試験—

鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)^{1*} 田中 瑞穂 (TANAKA Mizuho)¹ 佐野 友紀 (SANO Yuki)¹
柿沼 俊光 (KAKINUMA Toshihiro)¹ 馬場 亜沙美 (BABA Asami)¹ 山本 和雄 (YAMAMOTO Kazuo)¹

Key Words：ヒト試験，健康食品，特定保健用食品，機能性表示食品，ランダム化比較試験

Current Status and Issues of Clinical Trials for Efficacy and Safety Evaluation of Health Foods —Statistical analysis in randomized controlled trial—

Keywords: clinical trials, health food, Foods for Specified Health Uses (FOSHU), Foods with Function Claims, randomized controlled trial

Authors:

Naoko Suzuki^{1)*}, Mizuho Tanaka¹⁾, Yuki Sano¹⁾, Toshihiro Kakinuma¹⁾, Asami Baba¹⁾, Kazuo Yamamoto¹⁾

*Correspondence author: Naoko Suzuki

Affiliated institution

¹⁾ ORTHOMEDICO Inc.

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

はじめに

今回は、健康食品の有効性・安全性評価によく用いられる試験デザインの1つであるランダム化比較試験の概要と試験例を紹介した。第3回では、統計学的観点からランダム比較試験（RCT）について紹介する。

1. 統計学の必要性

統計学とは

統計学は、方法論であり、作物の収穫率の向上方法、薬剤効果や治療効果を正確に評価するために発展してきた。統計学の柱は、推論と予測であり、科学的根拠を得る際に、矛盾を生じさせないように進めるための論理基盤を付与するものである。加えて、ばらつきを考慮する学問でもある。様々な事象に対

して、全ての結果が一致する事象は少ない。例えば、ある睡眠薬の薬効を評価する際に、被験者の生理状態が同じであったとしても、たまたま疲れていて睡眠時間が長くなった者や実験時に神経が高ぶって眠れなかった者など偶然により誤差が生じてしまうことがある。また、ある漢方薬に不定愁訴を改善する効果があるという医師もいれば、全く効果がないという医師もいる。このように、生物学や医学における真実の追及には、ばらつきが混入するため、比較する2群間の差が偶然のばらつきよりも大きいかどうか、統計学を用いて評価する。

また統計学は、以下のようにデータの説明や記述に関する記述統計学と、標本から母集団の推測に関する推計統計学の2つの学問に大きく分けられる。

¹ 株式会社オルトメディコ * 責任著者

〒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

Tel: 03-3818-0610 / Fax: 03-3812-0670

< 記述統計学 >

記述統計学とは、あるデータに関して、そのデータが有する特性を記述、説明することを目的とした分野である。例えば、中学生の50人の身長データを取得したとする。この時、このデータを一見するだけでは、特性は見えてこない。ここで、このデータの中央値や平均値などを求めることで、この集団の身長の特徴が見えてくる。このように、データの特徴を記述することが記述統計学の大きな目的である。

< 推計統計学 >

推計統計学とは、標本から母集団を推定することを目的とした分野である。例えば、日本の中学生の身長特性を調査したいとする。この時、日本のすべての中学生の身長を取得し、記述統計学を用いることで解明することはできる。しかしながら、この方法は非常に困難である。そこで、推計統計学では、全国の中学生（母集団）からランダムに身長データ（標本）を取得する。そして、この標本の特徴からこの母集団の特性を推測する。このようにして、標本から母集団を推測することが推計統計学の目的である。

臨床試験においては、後者の推計統計学が重要になってくるが、標本の記述統計から母集団の統計量を推測するため、この2つの分野は密接に絡み合っている。

研究デザインの設計における統計学の必要性

統計学者の臨床試験における主な役割は、提示されたデータに対して適切な統計手法を適用する知識を提供することである。そのため、正しい統計手法を適用することばかりに目が向きがちである。しかし、それ以前に収集されたデータに問題があるとの指摘が増えている。それは捏造のようなデータそのものにおける問題ではなく、研究自体は適切に実施されたにもかかわらず、研究デザインの組み方を誤ったために、収集されたデータにバイアスが生じてしまうということである。また、ずさんなデータ管理もバイアスやデータのノイズにつながるため、データの質の水準を維持するようなデータ管理も要求されており、特に大規模で長期な研究において重要となる。研究において、統計解析はバイアスが少

なく、適切に取得された質の高いデータを用いなければ意味のある結果を得ることはできない。このような中で、統計学者が行うべき役割は、GSP (Good Statistical Practice) として位置づけられている。製薬企業ですでに用いられている GCP (Good Clinical Practice) や GLP (Good Laboratory Practice) と同様に、この GSP も近年重視されている¹⁾。欧州の製薬企業で働く統計学者らが、それを SOP (Standard Operating Procedures) としてまとめた。

ヒト試験を実施する際には、ほぼ必ず研究計画（プロトコル）を作成する。その内容は、仮説、対象、評価指標、統計学的考察（症例数や試験期間の根拠、統計解析手法）から構成される。仮説は、できる限り具体的にし、対象を明確にする。また、評価指標の測定や観察を一定の方法で実施することも重要である。そのためには、判定する者を少なくする方法や客観的に測定できる指標を用いる方法などが考えられる。ほかに血圧のように1回測定しただけでは不安定な指標の場合は2回測定して平均をとるなどの操作も必要である。研究デザインや評価項目の特性を考慮し、適切なデータ取得方法や統計解析手法を選択するためには、統計学の知識が不可欠である。したがって、プロトコルを作成する際、必要に応じて統計学者もメンバーに加えるとよい。特に、仮説の証明が困難な場合や大規模な研究の場合、関連因子が多く、複雑に絡み合っている場合にその必要性が増してくる。このように、統計学は解析段階だけでなくプロトコル作成から結果のデータを解釈する段階まで様々な段階でかかわってくる。これまで研究の計画段階や結果を解釈する段階において、統計学はあまりかかわってこなかった。また、表1に示したように、医学雑誌である Lancet が実施した調査でも同様に、統計解析よりもデザインの記述で不備を指摘した例が多いことを報告している²⁾。研

表1 Lancet において統計学者がデザインの不備に関して指摘した個所の割合（一部改変）²⁾

指摘箇所	不備の割合
適格条件	25%
検出力	14%
基本的なデザイン	14%
比較	10%
ランダム化	9%

究の失敗を防ぐために、どのような点を事前に注意しておくべきか。統計学は、そのための有益な考え方を提供することができる。

2. 研究デザインの設計と統計学

目的の選択

前述したように目的は、可能な限り具体的に設定することが求められる。仮説がある場合、まず先行研究があるかどうかを調査し、目的を検討する。次に、実際に細胞実験や動物実験、臨床試験を実施し仮説を検証するか決める。特に、臨床試験を実施する際は、事前にプロトコルを作成し、実施施設の倫理委員会で審査および被験者の同意を得ることが必須となる。これは、基本倫理要綱であるヘルシンキ宣言³⁾でうたわれている。

仮説の証明には段階がある。ヒトを対象とした研究をする場合、不用意に多くのヒトを対象とした試験をはじめから計画し実施することには、倫理的問題も多い。そこで、パイロット試験を本試験の前に実施することもある。パイロット試験とは、本試験を実施する前の探索的な小規模試験であり、本試験を実施するか判断するために実施される。一方、本試験の目的は、仮説の検証である。パイロット試験から本試験の流れで臨床試験を実施した例として、ある血栓溶解剤の急性心筋梗塞患者への臨床効果を検証した研究グループは、まず100人の患者でパイロット試験を行い、薬剤起因性の脳内出血の発生頻度が高くない事を確認した後、本試験を実施した⁴⁾。

母集団と標本とその選択

臨床試験において、母集団と標本は頻りに耳にする用語だと思う。母集団は研究の対象となるすべての被験者を網羅する集団であり、標本は母集団からランダムに抽出された集団を指す。母集団を研究対象として用いることは理想であるが、すべてを網羅することは困難であるため標本を抽出する。この標本に対して、臨床試験をはじめとした調査を実施し、その結果を母集団へ帰属する。このように標本の結果から、母集団の結果を推測するため、母集団を代表できるような標本を選択することが非常に重要となる。

例えば、成人女性の痩身願望の強さと食習慣を調査したい場合、対象集団は成人女性全般とし、痩身

願望が強い女性は、間食も少なく、少食で栄養バランスを考えた食事をしているのではないかという仮説を立てる。この時、栄養系大学の女性学生を標本とするとどうなるのであろうか。彼女らもほとんどが成人女性ではあろう。しかし、栄養に対する意識は高く、食生活は優れていると考えられるが、それは痩身願望が強いためではないかもしれない。このような可能性が考えられる場合、その標本は対象となる母集団を忠実に反映していない。つまり、偏った標本となる。適切な標本が選ばれると外部妥当性あるいは一般可能性の保証になる。

エンドポイントの選択

エンドポイントは目的に応じて、適切なものを選択する。例えば、感染症への感染を抑えることが目的なら、感染の有無がエンドポイントになる。他にも、目的が腸内環境の改善ならばビフィズス菌の占有率など、内臓脂肪の減少ならば、内臓脂肪面積などがエンドポイントになる。ほかにも主観的な評価として、MOS Short-Form 36-Item Health Survey (SF-36)^{5,6)} や MDQ (Menstrual Distress Questionnaire) 日本語版^{7,8)} のようなQOLを評価するアンケートを用いる場合もある。

実際に試験を計画する際には、エンドポイントを1つに絞ることが望ましい。様々なエンドポイントの評価、測定することはよいが、多重性の問題が生じてくる。例えば、A, B, Cの食品があり、*t*検定を用いて3つの食品間(A-B, A-C, B-C)の比較をしたとする。有意水準(差がないのに誤って差があると評価してしまう確率)を5%とすると、3つのうち1つでも有意になってしまう確率は14.3%まで上がる。つまり、評価するエンドポイントや測定時点が増えるほど、誤って差があると評価してしまう危険性が高まる。また、機能性表示食品届出におけるこの問題に関して、「機能性表示食品に対する食品表示等関係法令に基づく事後的規制(事後チェック)の透明性の確保等に関する指針」では、「2. 科学的根拠として明らかに適切とは考えられない具体例」の「(1)最終試験を用いた臨床試験(ヒト試験)及び研究レビューに共通する事項」に「ア.届出資料において、表示する機能性に見合ったりサーチクエスション(PICOまたはPECO)は設定されているが、表示の内容が、科学的根拠の内容に比べ過大

である、又は当該根拠との関係性が認められない場合」の例として、プライマリーエンドポイントにおいて表示する有意な結果が得られていないものや表示する機能性について、プライマリーエンドポイントが複数設定されている場合であって、一部のエンドポイントで有意な結果が得られているが他のエンドポイントで有意な結果が得られていないときに、その関連性を踏まえた説明がされないものとする⁹⁾。加えて、システマティックレビューを実施する際に生じる問題事項とその対処として、『「機能性表示食品」制度における機能性に関する科学的根拠の検証-届け出られた研究レビューの質に関する検証事業報告書』の「第2項. 不適正・研究論理に反すると考えられる注意事項」には、多重検定の問題に対する対処の事例として、「プライマリーエンドポイントとして、必要な項目のみに絞り込んでおくことや、複数設定されている場合には、Bonferroni法などを活用して、厳しく有意差を設定している一次研究を抽出するなどの取り扱いが求められる」とある¹⁰⁾。したがって、機能性表示食品届出のためのヒト試験を実施する際は、多重性について今後、より慎重に検討していくことが求められると考えられる。

前述したように、多重性の問題の対処法は、厳しく有意差を設定する方法とプライマリーエンドポイントの数を限定する方法の2つに大別される。前者の方法の1つとして、Bonferroni法が挙げられる。この方法は、 t 検定で得られたP値に繰り返した検定数を掛け合わせ、補正する。その補正後のP値が有意水準を下回れば有意差ありと評価する。他にも、Dunnett法やHolm法など、様々な方法が挙げられる。後者の方法は、複数のエンドポイントを測定する際に、研究において臨床的に最も重要なエンドポイントをプライマリーエンドポイントとし、薬理的なエンドポイントや副次的に測定したいエン

ドポイントをセカンダリーエンドポイントとする方法である。例えば、癌治療では、プライマリーを死亡(延命効果)とQOLとし、セカンダリーを腫瘍縮小としたりする。加えて、エンドポイントは明確に定義しておく必要がある。内臓脂肪面積を例にすると、2群間の比較するとき、最終検査の内臓脂肪面積の実測値または摂取前からの変化量で比較するのか、あるいは一定以上内臓脂肪が減少した者の人数を比較するのか決めておく必要がある。

ここで、機能性表示食品と医薬品の評価指標の設定の違いについて紹介する。機能性表示食品では、「学会等により健康の維持・増進に対する医学的及び栄養学的意義が十分に評価され、広く受け入れられているもの」とされている¹¹⁾。一方で、医薬品では、「プライマリーエンドポイントは、試験の主要な目的に直結した臨床的に最も適切で説得力のある証拠を与えるエンドポイントであるべきである」とされている¹¹⁾。加えて、プライマリーエンドポイントは通常1つにし、先行研究または公表論文で使用された実績のある妥当性や信頼性を得られたエンドポイントを使用することが薦められる¹¹⁾。実際に、機能性表示食品と医薬品のコレステロールに関するプライマリーエンドポイントを比較すると、機能性表示食品では実測値や変化量などの記載がないのに対し、医薬品においては「12週間後の変化率」と評価時期や評価方法が明確に定義されている(表2, 表3)。現行制度上、機能性表示食品におけるアウトカムは「学会等により健康の維持・増進に対する医学的及び栄養学的意義が十分に評価され、広く受け入れられているもの」とされるが¹¹⁾、検証する対象物を評価する観点から考えれば、機能性表示食品も医薬品もその評価方法に違いはないはずである。言い換えれば、機能性表示食品においても、医薬品と同様に、実測値や変化量など使用された実績のある妥当性や信頼性が得られた評価方法を選択す

表2 機能性表示食品の有効性に関する評価指標など(一部改変)¹¹⁾

ヘルスクレーム	プライマリーエンドポイント	試験期間
コレステロール	LDL-コレステロール	12週
血圧	血圧	12週
体脂肪	腹部脂肪面積, BMI, 腹囲	12週
整腸	排便回数, 排便量, 便性状, 糞便菌叢	2週以上

表3 医薬品(コレステロール)の有効性に関する評価指標など(一部改変)¹¹⁾

対象疾患名 (Clinical Trial ID)	プライマリーエンドポイント	試験期間
高コレステロール血症 (NCT02260648)	Percent Change from Baseline to Week 12 in Low-Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) Measured by Beta Quantification (Time Flame: Baseline, Week 12)	12週
高コレステロール血症, 家族性高コレステロール血症 (NCT02550288)	治療期12週時におけるLDL-Cのベースラインからの変化率(12週時でのLDL-C値を評価する)	12週
高コレステロール血症 (NCT02741245)	LDL-Cのベースラインからの変化率(ベースラインと投与12週後のLDL-Cの変化率を貯砂する)	2週以上

れば、機能性表示食品制度における「学会等により健康の維持・増進に対する医学的及び栄養学的意義が十分に評価され、広く受け入れられているもの」¹¹⁾の記述に対する条件は満たすものと考えられるが、この点については今後の業界動向から慎重に解釈していく必要がある。

その他、エンドポイントに影響する可能性を示す変数となる因子を調査しておくことも必要がある。この因子は、エンドポイントにより大きく異なるが、性別や年齢、運動習慣をはじめとした生活習慣などが挙げられる。しかしながら、このような因子になりうる項目は多く存在するが、エンドポイントに関連しない変数を増やすことは好ましくないため、プロトコル作成段階で検討し、調査する項目を明確にしておく必要がある。

3. データ解析と統計学

解析対象集団と欠損値の取扱い

すべての割付症例がプロトコル通りに試験を完了することは少ない。例えば不適格症例、介入の入れ替わり、途中脱落など様々な違反が生じる。このような症例の解析段階における取扱いは慎重に行う必要がある。安易に除外すればよいわけではない。RCTでは、ランダム化を行っているためである。ランダム化とは、各群に被験者をランダムに割り振ることによって、各群の被験者の背景因子を、未知のものを含めほぼ均一にし、各群を同一の集団として扱うための方法である。したがって、問題がある症例を安易に除外すると均一性がくずれ、同一の集団ではなくなってしまう危険性がある。そのため問題のある症例の取扱いに応じて、解析対象集団は3種類に大別される。

<Intention-to-treat (ITT) >

意図された介入を受けた群を解析対象とするランダム化の保持を目的とした手法。この手法では、有害事象による脱落などの負の効果も含めて解析するため、介入の実用的な価値を評価することができる。よって、ITTで効果ありと結論付けられた場合、その結果はより強固なものだといえる。ITTは理想的だが、達成は非常に困難である。

<Full analysis set (FAS) >

①介入を一度も受けていない、②割付後のデータが欠損という被験者を解析集団から除外する手法。ITTと同様にFASも、ランダム化の保持を目的としている。ITTと異なる点は、ランダム化の保持をしつつも、最小限の被験者を除外することで介入の効果を検証できる点である。

<Per protocol set (PPS) >

①介入が遵守されている、②重大なプロトコル違反がない、③データの利用が可能というような被験者のみを解析対象とする手法。純粋に介入の効果を評価することができる。PPSでは、途中脱落やデータ不足が生じた場合、解析から除外されてしまう為、研究開始時と終了時で患者背景が大きく変わる可能性があり、結果が現実世界に反映できるかは評価できない。非劣性試験や安全性の評価をする試験の場合はPPSが適切である。

実際の立場に立てば、不用意なバイアスが生じることを防ぐためにITT解析を行う¹²⁾。つまり、割り付けられた症例はすべて解析し、割付後にいかなるプロトコル違反があったとしてもそのまま解

表4 データ欠損のメカニズム

メカニズム	内容
MCAR	欠測が完全にランダムで生じた場合を指す。これは、欠測値の有無が他の分析に含まれる変数やその変数自体の値とは無関係であるということである。例えば、仕事の都合による転居で来院できなかったために欠測値が生じるような場合や測定装置がランダムな動作不具合を起こし欠測値が生じるような場合があり、これらはランダムに生じるため主要評価項目・有害事象の発現などとは全く無関係でありバイアスを生じない。
MAR	データが測定されている値に依存して欠測（欠損データとは無関係）した場合を指す。つまり観測データに依存した欠測であり、欠測値の生じるメカニズムが、観測されている変数で全て完全に説明することができる状態である。原疾患の悪化や有害事象の発現などに関連しうる理由による欠測の場合などであり、特に試験を中止した時点で悪化しているデータが十分にあるか検査結果を見た上で中止を判断した場合である。
MNAR	データが欠損データに依存して欠損する場合である。これは、分析に含まれる他の変数を統制した後でも、欠測値の有無が欠測値を持つ変数自身と関係を持つケースを示している。例えば、喫煙を止めさせる研究において、来院しなくなったら喫煙を疑うことになる。このような場合、バイアスを生じさせることになる。主要評価項目・有害事象の発現などと関係し得る理由による欠測であり、来院間隔が広く欠測の原因となったデータが得られていないなど、欠測が発現した段階で欠測を説明しきれだけの十分なデータが得られていない場合に当てはまる。

析する。長期的に死亡率や罹患率を評価するための試験では、多くの研究でこのITTを主要な解析方針にしている。エンドポイントとして、有効性の指標が明示してあるにも関わらず、重大なプロトコル違反をしているからと言って、不用意に解析除外しない事が重要な点である。しかし、エンドポイントが欠損値であれば解析に問題が生じる場合がある。

欠測値が生じるメカニズムを表4に示した。欠測が生じるメカニズムは3種類に分類され、完全にランダムに生じる場合（Missing Completely At Random; MCAR）、測定されている値に依存している場合（Missing At Random; MAR）、欠損データに依存している場合（Missing Not At Random; MNAR）である。特に、MARとMNARはバイアスが生じるので、試験の計画段階で可能な限りこのような欠損データが生じないように対策を取り、生じた場合の取り扱い方法も決めておくことが重要である。

前述した欠損データの取り扱い方法は、試験を完遂しなかった被験者のデータを削除して解析する方法（complete case 解析）、完遂できなかった被験者の欠損データを補完して解析する方法 {Last Observation Carried Forward (LOCF) 解析, Baseline Observation Carried Forward (BOCF) 解析}、完遂できなかった被験者の欠損データを補完せず観測された全データを用いて解析する方法（Mixed-effect Models for Repeated Measures; MMRM）などがある。ここで挙げた欠損データの取り扱いと欠損メカニズ

表5 欠損メカニズムと欠損に対する解析の対応表

	MCAR	MAR	MNAR
Complete case 解析	○	×	×
LOCF 解析	×	×	○
BOCF 解析	×	×	○
MMRM 解析	×	○	×

○：適用可，×：適用不可

ムの対応は表5に示した。

< Complete case 解析 >

完遂していない被験者のデータを削除して、全評価時点の測定値が観測された被験者に対して解析計画に基づいた解析方法を適用する方法であり、欠測値の取り扱いとして最も単純なアプローチである。解析の実行が非常に容易である点がメリットである。Complete case 解析が根拠のある妥当な推定結果を与える状況は、欠測メカニズムがMCARのもとでは幾つか考えられるが、一般的には不適切であることが多い。完了例ではない被験者のデータを用いないまま解析を行うため、バイアスを引き起こす可能性があること及び精度の低下の2点で問題があると考えられる。

< LOCF 解析 >

単一補完の方法であり単調な欠測と非単調な欠測の両方に対して適用可能である。また、プロトコルで規定された時点で評価を行う試験において被験者の応答変数が脱落後に変化しないという強い仮定が

成り立つ場合に導かれる応答変数の推定量にバイアスが入らないとされる補完法である。欠損値が存在しないデータを作成し、解析を実施するため比較的理解しやすい点がメリットである。LOCFを妥当とする欠測メカニズムの仮定はMNARである。

<BOCF 解析>

LOCFと同様の単一補完の手法である。完了例ではない被験者の欠測値をその被験者のベースライン測定値で補完する手法である。つまり、ベースラインからの変化量をエンドポイントとする場合には欠測値は全て0で置き換えられる。BOCFは、脱落后には介入効果が消え、介入前の状態に戻ると想定することが妥当と考えられる場合に選択が可能である。一方でLOCFに対する論説はBOCFに対しても同様にあてはまる。LOCFやBOCFといった単一補完の方法は、データの不確実性を単一の値で補完することで無視することに繋がり、真のデータの複雑さとは異なるものになってしまうと考えられる。

<MMRM 解析>

MMRMは線形混合モデルを用いた解析手法である。これは経時測定データの場合に、欠損値を補完することなく、応答に対して特定の確率分布と回帰モデルを仮定することによって解析を行う手法である。そして、妥当な結果を得るためには、MARの仮定が必要となる。また、MARの場合においてバイアスのない解析を行うこと、および検定・信頼区間を通常の線形混合モデルと同様に取り扱うことが可能である。一方、モデルが非常に複雑であること、MNARの場合にバイアスが入る可能性があるという欠点を有する。また、この解析手法は脱落割合、時点間の相関性の影響を受けるため、症例設計を適切に行わなければならない。そして、不十分な症例数であった場合、適切な推定が行えず、バイアスを含む結果となることが考えられる。

ここまで述べてきたように、臨床試験において、すべての被験者が試験をプロトコル通りに完遂することは少ない。そのため、適切な解析対象集団や欠損値に対する取り扱い方法を選択することが求められている。

経時的繰り返し測定の評価方法

臨床試験において、経時的にデータを測定するこ

とは少なくない。経時的な測定データの特徴は、同一対象に対し繰り返し測定することから必然的に測定値間に相関が生じることである。また、 t 検定を用いた2群間の平均値の比較を各測定時点で繰り返し行った場合、時点数が多ければ多いほど有意差が生じやすくなり、時点の多重性の問題が生じる。このような問題の対処方法として、介入期間の最終時点での測定値の比較、事前に定めた改善の定義を達成した被験者の割合の比較などが考えられる。

4. 結果の解釈と統計学

統計的有意性と臨床的意義

有意確率（P値）は、統計学的有意性を評価するための指標として通常用いられている。P値が有意水準を下回った際に、有意差があると言える。一般的に有意水準は0.05に設定されることが多いが、その定義はあいまいである。例えば、Fisherは0.02だと帰無仮説を強く否定するが、0.05であれば迷うことはないだろうとした¹³⁾。また、Victor Cohnはフリップコインで5回続けてコインの表が出ると声を上げるとした。この確率は0.03であり、0.05を下回ると人間は異常を感じるということから、有意水準が0.05となったのだろうとしている。有意水準をP値が下回った際に有意差があるとして、多くの科学的な結論に用いられているが、誤用と誤解がしばしば見過ごされている。代表的な誤解として、有意差があれば効果があると判断してしまうこと、P値が小さいほど効果が大きいと認識してしまうことの2つが挙げられる。例えば、体脂肪率を減少させる機能が期待される緑茶を8週間摂取する臨床試験を実施したとする。その結果として、摂取8週間後の体脂肪率において、有効成分を含まない食品群（プラセボ群）と有効成分を含む食品群（被験食品群）に有意差が確認され、その群間差（被験食品-プラセボ群）が0.1%であった際、被験食品は体脂肪率を減少させる効果があったと報告されることがある。しかし、実際に、8週間で体脂肪率を0.1%減少させる効果があったとして、その差に意味があるのだろうか。その差に意味があるかどうかを評価するには、統計的に差があるかどうかではなく、臨床的に意味のある差であるかどうかを評価する必要がある。つまり、P値は2つの母集団が統計学的に異なった母集団かどうかを評価するのみで、そ

表 6 統計学的優位性と P 値に関する ASA 声明^{15,16)}

No.	内容
1	P 値はデータと特定の統計モデル（訳注：仮説も統計モデルの要素の一つ）が矛盾する程度を示す指標の一つである。 P-values can indicate how compatible the data are with a specified statistical model.
2	P 値は、調べている仮説が正しい確率や、データが偶然のみでえられた確率を測るものではない。 P-values do not measure the probability that the studied hypothesis is true, or the probability that the data were produced by random chance alone.
3	科学的な結論や、ビジネス、政策における決定は、P 値がある値（訳注：有意水準）を超えたかどうかのみに基づくべきではない。 Scientific conclusions and business or policy decisions should not be based only on whether a p-value passes a specific threshold.
4	適正な推測のためには、すべてを報告する透明性が必要である。 Proper inference requires full reporting and transparency.
5	P 値や統計学的有意性は、効果の大きさや結果の重要性を意味しない。 A p-value, or statistical significance, does not measure the size of an effect or the importance of a result.
6	P 値は、それだけでは統計モデルや仮説に関するエビデンスの、良い指標とはならない。 By itself, a p-value does not provide a good measure of evidence regarding a model or hypothesis.

の効果の大きさや結果の重要性を示す値ではないのである。

このような誤解や誤用が見過ごされている中で、2016年にアメリカ統計協会（American Statistical Association, ASA）がP値の適切な使用と解釈の原則に関する声明を発表した^{14,15)}。その声明には、表6に示した6つの原則が提示されている。また2019年にはこの声明を踏まえ、自然科学雑誌であるNatureにおいて、統計学的な有意差のみで結果を判断するのは危険であるという考えに800人以上

の科学者が賛同したとの記事が掲載された¹⁶⁾。このように、P値の誤用と誤解を理解し、統計学的有意性と臨床的意義を適切に取り扱っていくことで、より強い科学的根拠を有する結果を示すことができると考えられる。

おわりに

本稿では、統計学的観点からランダム化比較試験を紹介した。次回はクロスオーバー試験の概要および試験例を紹介する予定である。

参考文献

1. Wiles A, Atkinson G, Huson L, Morse P, Struthers L.: Good statistical practice in clinical research: Guideline standard operating procedures. *Ther. Innov. Regul. Sci.* **28** (2): 615-627, 1994.
2. Gore SM, Jones G, Thompson S.: The Lancet's statistical review process: areas for improvement by authors. *Lancet* **340**: 100-102, 1992.
3. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects Adopted. *Bull. World Health Organ.* **79** (4): 373-374, 2001.
4. Topol T, Califf R, Van de Werf F, Armstrong P, Aylward P, *et al.*: An International Randomized Trial Comparing Four Thrombolytic Strategies for Acute Myocardial Infarction. *New English J. Med.* **329** (10): 673-682, 1993.
5. Fukuhara S, Bito S, Green J, Hsiao A, Kurokawa K: Translation, Adaptation, and Validation of the SF-36 Health Survey for Use in Japan. *J. Clin. Epidemiol.* **51** (11): 1037-1044, 1998.
6. Fukuhara S, Ware JE, Kosinski M, Wada S, Gandek B.: Psychometric and Clinical Tests of Validity of the Japanese SF-36 Health Survey. *J. Clin. Epidemiol.* **51** (11): 1045-1053, 1998.
7. Rudolf HM.: The development of a Menstrual Distress Questionnaire. *Psychosom. Med.* **30** (6): 853-867, 1968.
8. 秋山昭代, 茅島江子: MDT (Mirror Drawing Test) からみた性周期の心身に及ぼす影響について. *日看研会誌* **2** (2): 61-66, 1979.
9. 消費者庁: 機能性表示食品に対する食品表示等関係法令に基づく事後的規制 (事後チェック) の透明性の確保等に関する指針 2020.
10. 消費者庁: 「機能性表示食品」制度における機能系に関する科学的根拠の検証 - 届け出られた研究レビューの質に関する検証事業 報告書 2016.
11. 種村菜奈枝, 濱館直史, 漆原尚巳: レギュラトリーサイエンスの視点からみた医薬品と保健機能食品における有効性又は安全性の科学的根拠に必要な規制やその考え方の相違. *日補完代替医療会誌* **14** (2): 47-60, 2017.
12. Gillings D, Koch G.: The Application of the Principle of Intention-to-Treat to the Analysis of Clinical Trials. *Drug Inf. J.* **25** (3): 411-424, 1991.
13. Fisher RA.: *Statistical methods for research workers.* Oliver and Boyd, London, p.80, 1950.
14. Wasserstein RL, Lazar NA. The ASA's Statement on p-Values: Context, Process, and Purpose. *Am. Stat.* **70** (2): 129-133, 2016.
15. 日本計量生物学会: 統計的有意性と P 値に関する ASA 声明. 2017.
16. Amrhein V, Greenland S, McShane B.: Scientists rise up against statistical significance. *Nature* **567** (7748): 305-307, 2019.

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

ミルク

至高の食品がわかる 伊藤 敏敏 著



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 たかとし）

◆農学博士

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

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

地中海マルタ島産の天然海藻 パディナ・パボニカの機能性

眞鍋 昇 (MANABE Noboru)^{1,2,*}, ジャン・アレクシス グリモー (Jean-Alexis GRIMAUD)³,
ジル グティエレ (Gilles GUTIERREZ)⁴, 固城 泰史 (KOJYO Yasushi)⁵

Key Words: 地中海, マルタ島, 天然海藻, パディナ・パボニカ [*Padina Pavonica* (Linnaeus)], アルコール抽出エキス, Maltanediol, 細胞外マトリックス産生亢進, 骨再生, 軟骨再生, 皮膚再生

はじめに

古代から、多種多様な海藻が繁茂する豊穡の海として知られている地中海の沿岸地域や島嶼地域では、様々な海藻が食品、調味料、香辛料、生薬などとして活用されてきました。このことは約2,000年前の古代ローマ帝国時代最盛期に大プリニウス（ガイウス・プリニウス・セクンドゥス・Gaius PLINIUS Secundus・23年生～79年没）が著した最古の百科事典「博物誌・Naturalis Historia」の植物・葉草篇に記述されていました¹⁾。プリニウスの「博物誌」には、フェニキア人が交易拠点として紀元前8世紀ころに建国した古代都市国家カルタゴ（北アフリカのチュニジア共和国の首都チュニスの近郊にありましたが、紀元前146年にローマと争ったポエニ戦争に敗れて滅亡しました）の住民たちが近郊の地中海沿岸部で採れる団扇形の海藻を喫食したり海藻に含まれているオイルを抽出して服用すると、疲労が軽減されること、ストレスが解消されること、関節の痛みが和らいで柔軟性が回復することなどが記述されています。カルタゴのあったチュニジアの沖約250キロの地中海上に浮かぶマルタ島でも、古

代から様々な海藻、特に団扇形の褐藻類が食品、香辛料、生薬などとして活用されてきました。マルタ島は、面積が約316平方キロ（東京23区の面積約623平方キロの半分ほど）の小島で、約40万人が暮らしています。島全体が世界遺産に登録されて毎年200万人以上の観光客が訪れる「地中海の真珠」として有名なりゾート地です。マルタ島は、イタリアともアフリカ大陸とも近いため、古代にはカルタゴやローマなどの地中海諸国との貿易で繁栄し、その後イスラム勢力が地中海を支配下におこうとした時代には、イスラム教勢力と闘うキリスト教勢力の拠点でした。12世紀には、キリスト教勢力が連携してマルタ騎士団（正式名称：ロドスおよびマルタにおけるエルサレムの聖ヨハネ病院独立騎士修道会）を設立し、現在まで継続されています。

このマルタ島で古代から現在まで食品、調味料、香辛料、生薬などとして用いられてきたのが団扇形の海藻パディナ・パボニカ [*Padina Pavonica* (Linnaeus)] です^{2,3)} (図1A)。海藻は褐藻類、緑藻類、紅藻類に3分類されますが、パディナ・パボニカは多細胞で複雑な構造をもつ褐藻類で、細胞内に

¹ 東京大学農学部, ² 現: 大阪国際大学人間科学部, ³ パリ第6大学医学部,

⁴ テキシファイン・ラボラトリー社, ⁵ 日本食品科学研究所

連絡先: * 眞鍋 昇 (Noboru Manabe) (責任著者)

〒570-8555 大阪府守口市藤田町6-21-57

大阪国際大学 学長補佐・教授

日本学術会議会員・東京大学名誉教授

家畜改良センター理事・日本中央競馬会経営委員

電話: 06-6902-0791 (代), e-mail: n-manabe@oiu.jp



図1 団扇を広げたような特徴的な形態をしているパディナ・パボニカ (A)。エタノール抽出するために乾燥したパディナ・パボニカを前にしたジル・グティエレ博士 (B)。

は光合成をする葉緑体が含まれています。この葉緑体には陸上植物の葉緑体に含まれているのと同じ緑色の光合成色素クロロフィル（葉緑素）に加えて赤褐色の光合成色素フコキサンチン（褐藻素）が多量に含まれているので、褐色を呈しています。パディナ・パボニカは団扇を広げたような特徴的な形態をしているので、日本ではこの仲間の褐藻類をウミウチワ属と呼び、西洋では細胞内に炭酸カルシウムの結晶体アラゴナイトを合成蓄積するために真珠色に輝いて見えるので「孔雀の尾羽・ピーコックテール」と呼んできました。日本でも古くから褐藻類は食用として利用されてきました。日本では、コンブ目のコンブやワカメ、ヒバマタ目のヒジキ、ナガマツモ目のモズクなどの多くの褐藻類が伝統食の食材として愛好されてきました。地中海沿岸地帯でも、大航海時代の1498年にヴァスコ・ダ・ガマ（Vasco da GAMA）によってインド航路が開かれてインド原産の胡椒がヨーロッパに安価に供給されるようになるまでは、褐藻類のパディナ・パボニカが食肉や魚介の調理のための香辛料やサラダのための調味料として広く用いられていました。加えて、プリニウスの「博物誌」に記載されているように「関節痛を和らげて柔軟性を改善する効果」が期待されて生薬としても服用されてきました⁴⁶⁾。このように、地中海沿岸ではパディナ・パボニカには長い食経験があり、「関節痛を和らげて柔軟性を改善する」生薬や伝統食材として広範囲で食べられていましたが、大航海時代に安価な胡椒が大量に輸入されるように

なっただけでなく生薬としての喫食経験も失われてしまいました。

1. 褐藻類パディナ・パボニカの機能性

ジル・グティエレ博士（Gilles GUTIERREZ）は、フランス共和国リヨン第1（クロード・ベルナール）大学で薬学博士号を取得した後、1982年にヨーロッパで古来から健康増進効果がうたわれてきている伝統食品の機能を科学的に再評価して商品化するテキシファイン・ラボラトリー社（TEXINFINE Laboratory）を創立しました⁷⁾（図1B）。博士は、32年前から細胞外マトリックスの専門家であるジャン・アレクシス・グリモー（Jean-Alexis GRIMAUD）⁸⁾パリ第6（ピエールとマリー・キュリー）大学医学部教授（科学技術省バイオテクノロジー庁長官を兼任）と共同で地中海の伝統食品パディナ・パボニカの効用を近代科学の眼で再評価してきました。彼らは、パディナ・パボニカのエタノールで抽出される成分（以下、パディナ・パボニカ抽出物）は、ヒトの初代培養細胞を用いた試験で骨芽細胞、軟骨細胞、皮膚細胞などにおいて細胞外マトリックスの産生機能を亢進すること、細胞の再生機能を亢進すること⁹⁾、パディナ・パボニカ抽出物の主要有効成分は非ステロイド系でエストロゲン受容体を修飾する Maltanediol であることなどを見出してきました¹⁰⁾。これらの活性が、ヨーロッパでも大きな

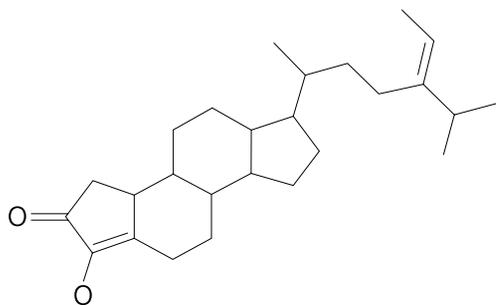


図2 パディナ・パボニカ抽出物の主要有効成分 Maltanediol の化学構造。

社会問題となっている骨減少症（オステオペニア osteopenia）を改善して骨粗鬆症（Osteoporosis）患者の増加を抑制したり，膝痛に起因する歩行困難を改善したり，肌の加齢変化・エイジングを遅らせるなどの効果につながると考え，1998年にテキシファイン・ラボラトリー社から機能的食品 Dictyolone® 500（フランスにおける商品名で，パディナ・パボニカ抽出物をグルコースに含ませた錠剤）として製造販売を開始しました⁷⁾。

2. パディナ・パボニカ抽出物の臨床効果

マルタ大学医学部¹¹⁾ やアリストテレス大学医学部（ギリシアで最高ランクの高等教育機関）¹²⁾ で専門医の指導のもと閉経後の高齢女性がパディナ・パボニカ抽出物を喫食した場合，骨密度の低下を抑制することが確認されました。以下，マルタ大学医学部における臨床治験の概要を取りまとめました¹¹⁾。閉経後の骨減少症の女性が24か月間パディナ・パ

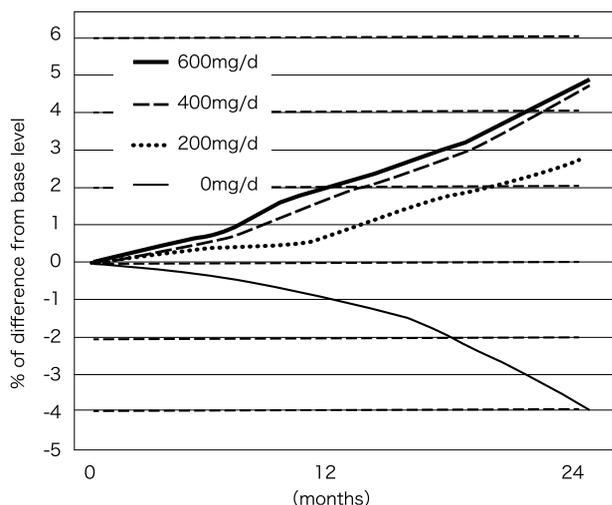


図3 大腿骨頸部における骨密度におよぼすパディナ・パボニカ（0, 200, 400 および 600mg/日）の影響（増減を試験開始時と比較した%で表示）。

ボニカ抽出物を喫食した場合の骨密度に及ぼす影響を調べるとともに適切な1日あたりの服用量の設定と副作用の評価を行いました。

研究参加者の採用基準・クライテリアは，末梢血中卵胞刺激ホルモン・FSH/ 黄体化ホルモン・LH 比および末梢血中エストロゲン（17β エストラジオール）濃度に異常がなく，老化に伴う骨減少症（骨密度が若年成人平均値・young adult mean を基準として50%以下まで減少）でインフォームドコンセントに署名した閉経から5年以上経過した55歳以上の婦人とししました。研究応募者のうち担癌患者と前癌状態の者，消化管系の吸収不良症候群患者，カルシウム代謝異常症患者，過去6か月以内にエストラジオール治療を受けたことのある者，ステロイド，ヘパリン，甲状腺薬，カルシトニン製剤などを服用している者，長期間入院している患者，シガレットを1日10本以上吸い続けている過度の喫煙者は除外されました。

研究参加者160名を40名ずつ4グループに分け，エタノール抽出する前の凍結乾燥したパディナ・パボニカとして4用量（0, 200, 400あるいは600mg/日）を昼食時に毎日1回ずつ24か月間喫食しました。ただし，コントロール群（0mg/日）の研究参加者は，炭酸カルシウム（450mg/日）を含む錠剤を毎日1回ずつ同様に喫食しました。研究参加者は，3か月ごとに大学病院に通院し，一般検診，左股関節の大腿骨頸部および腰椎（L2, L3 および L4）の骨密度の測定，骨形成評価のために末梢血中コラーゲ

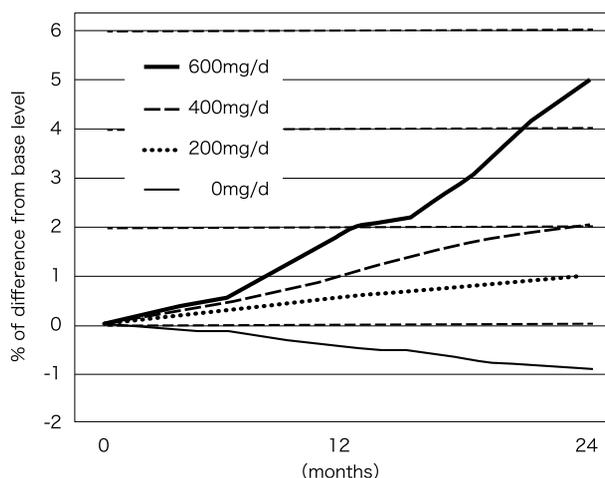


図4 腰椎における骨密度におよぼすパディナ・パボニカ（0, 200, 400 および 600mg/日）の影響（試験開始時と比較した%で増減を表示）。

ンマーカー（プロコラーゲン IC 末端ペプチド）の測定ならびに骨吸収評価のためにピリジニウム・クロスリンクの測定を実施しました。6か月ごとに血液学検査（全血球計測、赤血球沈降速度測定など）と血液生化学検査（血清中の空腹時ブドウ糖、総タンパク質、アルブミン、脂質プロファイル、クレアチニン、電解質、カルシウム、リン酸レベルの測定や肝機能検査、腎機能検査など）を行って副作用を評価しました。試験開始前、12か月後および終了後に超音波法にて子宮内膜の肥厚の有無の確認、子宮頸部と膣の塗抹標本による細胞診および骨腫瘍マーカー検査を行ってエストロゲン様副作用の有無を評価しました。

この臨床試験の結果、パディナ・パボニカ抽出物は、用量依存的に大腿骨頸部および腰椎の骨密度を有意に改善することが分かりました（各々、図3および図4）。すなわち、大腿骨頸部においては、24か月喫食後の各群の骨密度が、試験開始時と比較してコントロール群（0mg/日・炭酸カルシウム450mg/日）では3.99%低下しました。パディナ・パボニカ 200mg/日群では2.87%増加、400mg/日群では4.71%増加、600mg/日群では4.88%増加しま

した（ $P=0.016$ ）。腰椎においては、コントロール群では0.90%低下（腰椎L2、L3およびL4の平均値で表示）しましたが、パディナ・パボニカ 200mg/日群では1.02%増加、400mg/日群では2.06%増加、600mg/日群では5.01%増加しました（ $P=0.028$ ）。試験中3か月ごとに骨形成評価のために測定した末梢血中コラーゲンマーカーの上昇および骨吸収評価のために測定したピリジニウム・クロスリンクの低下を認めました。副作用を評価するために実施した6か月ごとの血液学検査と血液生化学検査においては有意な変化を認めず、試験開始前、12か月後および終了後に行った超音波法による子宮内膜肥厚診断、子宮頸部と膣の細胞診および骨腫瘍マーカー検査においても異常を認めませんでしたので、安全であると考えられました。すなわち、パディナ・パボニカ抽出物は骨密度を改善するが、特段の副作用はないと考えられました。

臨床治験からパディナ・パボニカ抽出物製剤の Dictyolone® 500 には骨減少症と骨粗鬆症の進行を防ぐ効果が期待されることが分かりましたので、ジル・グティエレ博士は健康維持に資する食品として登録し⁹⁾、フランスを中心としたヨーロッパ諸国やブラ

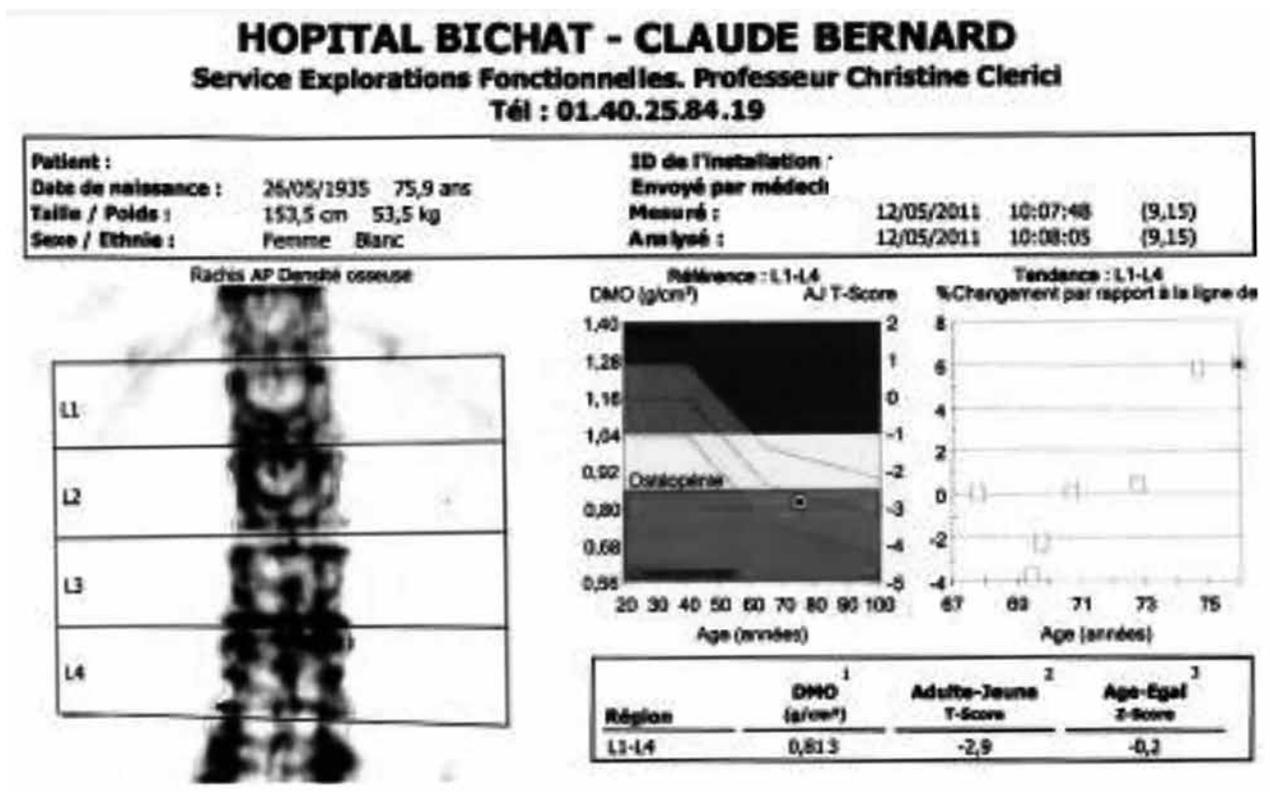


図5 医師の指導のもと閉経後の婦人が10年間1日1錠のDictyolone® 500を喫食し半年ごとに骨密度測定装置を用いて腰椎の骨密度を測定した臨床試験の一例。

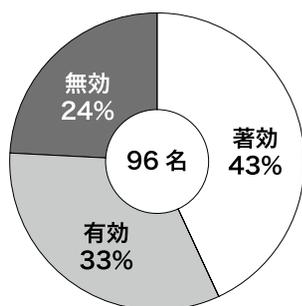


図6 閉経後の骨減少症の96名の婦人が医師の指導のもとで毎日1錠のDictyolone® 500を10年間喫食し腰椎の骨密度を測定した。

43%で著効(骨密度上昇)、33%で有効(骨密度低下抑制)、24%で無効であった($P=0.031$)。

ジルを中心とした中南米諸国などの広い地域で販売しています。

さらに、ジル・グティエレ博士とジャン-アレクシス・グリモーパリ第6大学医学部教授は、パディナ・パボニカ抽出物製剤のDictyolone® 500の骨減少症に対する効果を確認可能なものとするため、パリ市とパリ市近郊の医療機関の協力を得て、上述のマルタ大学医学部で行った臨床試験と同じ研究参加者の採用基準に従って閉経後の骨減少症の婦人96名を選び、医師の指導のもとでDictyolone® 500を毎日1錠ずつ10年間の長きにわたって喫食した影響を調べました¹³⁾。試験中半年ごとに骨密度測定装置を用いて腰椎(L2, L3およびL4)の骨密度を測定しました(図6)。10年間の臨床試験終了時の時点で、Dictyolone® 500喫食によって41名(43%)の婦人で著効(骨密度が上昇しました)、32名(33%)で有効(骨密度の低下が抑制されました)、すなわち

73名(76%)の婦人で望ましい効果が認められましたが、残りの23名(24%)で無効(有意な効果が検出されませんでした)でした($P=0.031$)。

さいごに

パディナ・パボニカ抽出物には骨減少症の進行を改善して骨粗鬆症への進行を防ぐ効果があることが、10年間におよぶ臨床試験で実証されました。パディナ・パボニカは葉状体にカルシウムを沈着させることができるので独特な真珠色を呈する褐藻ですが、そのエタノール抽出物はヒトの骨芽細胞においてカルシウムを固定する能力を高める¹⁴⁾とともにヒト初代培養骨芽細胞の骨細胞への分化を亢進させることが報告されています¹⁵⁾。このようなパディナ・パボニカの活性の発現は、骨芽細胞のエストロゲン受容体発現への影響と関連していると考えられますが¹⁶⁾、パディナ・パボニカの活性は健全な骨芽細胞に発現するもので、ヒト骨肉腫細胞(osteosarcoma)における細胞死・アポトーシスを亢進することはあっても腫瘍細胞の増殖を亢進することはないことが報告されていますので安全であると考えられます¹⁷⁾。パディナ・パボニカ抽出物には、骨減少症と骨粗鬆症を軽減するという骨代謝に関わる活性のみならず、肌の加齢変化・エイジングを遅らせる効果があるので基礎化粧品成分として30年以上前から利用されてきていますが⁶⁾、これらに加えて抗細菌効果¹⁸⁾、抗糖尿病効果^{19,20)}、創傷治癒促進効果²¹⁾などの多面的な効果があることも報告されており、今後、健康食品としてさらに多面的に活用されることが期待されます。

文 献

1. プリニウス：博物誌 (Naturalis Historia) ・全 37 巻，中野定雄他訳，雄山閣，2012.
2. Taylor W.R.: Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas, 234-235/870 pages, *University of Michigan Press*, Ann Arbor, MI, USA, 1960.
3. Guiry G. M., Algae-Base: World-wide electronic publication (<http://www.algaebase.org>), National University of Ireland, Galway, 2019.
4. Gutierrez G.: Biologically active compositions extracted from dictyotales plant family, *US Patent*, **5**: 961-981, 1999.
5. Gutierrez G., M. Serrar: Use of dictyotal extracts in the production of a topical composition, *US Patent*, **9**: 823-914, 2003.
6. Grimaud J.-A., Gutierrez G.: Cosmetic and dermatological compositions based on algae extracts, *European patent* 2139503-B1, 2011.
7. Institute of Cellular Pharmacology (ICP), Website information (<http://www.icpconcepts.com/>)
8. Grimaud J.-A.: Les fibres: De la recherche aux perspectives thérapeutiques. *Médecine Sciences*, **10**: 1219-1221, 1994.
9. Gutierrez G.: Pre-market notification about extract of *Padina Pavonica* by FDA, 2010.
10. Cassar M., Shoemake C., L. Azzopardi L. M. *et al.*: De novo design of non-steroidal oestrogen receptor modulating molecules using maltanediol as a lead molecule. *International Journal of Drug Design and Discovery*, **4**: 965-977, 2013.
11. Galea R. R. P.: The effect of a marine alga, *Padina Pavonica*, on Maltese menopausal women. *Doctor Thesis of University Malta*, 1-189, 2009.
12. Mironidou-Tzouveleki M., Dokos C. H., Dokou K.: Effects of extracts of marine algae on osteoporosis. *Aristotle University Medical Journal*, **35**: 7-12, 2008.
13. Pini, J., Katzenberger T.: A clinical observation of Dictyolone® 500. ICP-Textifine report, 1-41, 2016.
14. Nguyen M.H.T., Jung W.K., Kim S-K.: Marine algae possess therapeutic potential for Ca-mineralization via osteoblastic differentiation. 429-441 pages, In: *Advances in Food and Nutrition Research* Vol. 64: *Marine Medicinal Foods: Implications and applications, macro and microalgae* (Kim S-K. eds), Academic Press, New York, USA, 2011.
15. Minetti M., Bernardini G., Biazzo M. *et al.*: *Padina Pavonica* extract promotes *in vitro* differentiation and functionality of human primary osteoblasts. *Marine Drugs*, **17**: 473-487, 2019.
16. Grixti S. S.: Determining the *in vitro* effect of *Padina Pavonica* on the oestrogen receptor and oestrogen responsive primary cell lines. *Doctor Thesis of University Malta*, 1-138, 2016.
17. Bernardini G., Minetti M., Polizzotto G. *et al.*: Pro-apoptotic activity of French Polynesian *Padina Pavonica* extract on human osteosarcoma cells. *Marine Drugs*, **16**: 504-523, 2018.
18. El-Fatimy E. S., Said A. A-M.: Antibacterial activity of methanolic extract of dominant marine alga (*Padina Pavonica*) of Tolmeta coasts, Libya. *Journal of American Science*, **7**: 745-751, 2011.
19. Germoush M. O.: Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Padina Pavonica* and *Turbenaria ornata* in streptozotocin/nicotinamide diabetic rats. *Life Science Journal*, **10**: 1265-1271, 2013.
20. Germoush M. O., Elgebaly H. A., Hassan S. *et al.*: Anti-diabetic effects of *Padina Pavonica* in fructose-induced diabetic rats. *Aljouf University Science and Engineering Journal*, **2**: 10-16, 2015.
21. Balianoa A. P., Pimentela E. F., Buzina A. R., *et al.*: Brown seaweed *Padina Pavonica* is a prominent natural wound-care product. *Brazilian Journal of Pharmacology* **26**: 714-719, 2016.

漢方座浴 (YOSA-SHINY) に対する抗メタボリック シンドロームと抗酸化作用に関する臨床研究

具 然和 (GU Yeunhwa)*

Key Words: Oriental herbal medicine, Metabolic syndrome, Heat effect, Detoxification, Antioxidant effect

Clinical test related to bloodstream, anti-oxidant, anti-metabolic syndrome in human by oriental medicine lust (YOSA-SHINY)

Author: Yeunhwa Gu¹, Takenori Yamashita² and Tota Inoue³

¹ Graduate School of Health Science, Junshin Gakuen University

² Graduate School of Health Science, Suzuka University of Medical Science

³ Mie breathing swallowing rehabilitation clinic

Corresponding author: Yeunhwa Gu email: gu.y@junshin-u.ac.jp

Chairperson International Affairs Department of Radiological Science,
Graduate School of Health Science, Faculty of Health Science Junshin Gakuen University
1-1-1 Chikushigaoka, Minami-ku, Fukuoka 815-8510 Japan TEL :+81-92-554-1255, FAX : +81-92-551-0072

Key Words: Oriental herbal medicine, Metabolic syndrome, Heat effect, Detoxification, Antioxidant effect

Abstract

In this study, the effects of YOSA-SHINY on diet, antioxidant effects, skin beautiful effects, and basal metabolism were studied.

Physiological tests, liver function (AST, ALT), lipid metabolism (total cholesterol, LDL cholesterol, HDL-cholesterol)The measurement of adipose fat, glucose metabolism (glucose, HbA1c), SOD-like activity and urine were collected from the subjects, and the detox effect was studied.

The luminous intensity of AAPH-derived luminol was remarkably suppressed by Korean herbal medicine. Therefore, it was speculated that the OS in the living body was attenuated. The body weight, BMI, hip size and waist circumference tended to decrease over time, suggesting that visceral fat burning reduced body fat percentage. Urinary concentrations of heavy metals in urine after oriental medicine lust were significantly lower at week 4, week 8, and week 12 than at week 0, especially at week 12. The effect was recognized.

The warming effect of Korean herbal medicine and herbs may be a chelating agent that inactivates heavy metals that exhibit a catalytic effect on the oxidation reaction as an antioxidant, and is also expected to be an antidote.

具 然和 (Yeunhwa Gu) ¹ (責任著者)

¹ 純真学園大学保健医療学部放射線技術科学科 〒815-8510 福岡県福岡市南区筑紫丘1丁目1-1

TEL: 092-554-1255 e-mail: gu.y@junshin-u.ac.jp

² 鈴鹿医療科学大学大学院保健衛生学研究科

³ Mie breathing swallowing rehabilitation clinic

要旨

本試験では、漢方座浴 (YOSA-SHINY) の、ダイエット効果、抗酸化効果、美肌効果および基礎代謝への影響について検討した。健常成人を対象にして女性 15 名、男性 5 名計 20 人とした。13 種類のハーブ入りのパックを用いて全身浴 1 時間後、生理学的検査、肝機能 (GOT, GPT)、脂質代謝 (総コレステロール, LDL- コレステロール, HDL- コレステロール, 中性脂肪, 糖代謝 (グルコース, HbA1c), SOD 様活性の測定及び被験者から尿を採取し、detoxification 効果を検討した。

漢方座浴により、AAPH 由来のルミノール発光強度が顕著に抑制されたことから、温熱効果とハーブに含まれるフラボノイド等がラジカルを補足あるいは細胞内情報伝達を活性化することにより、ペルオキシラジカルをスカベンジングし、生体内の OS を減弱させることが推察された。体重, BMI, ヒップサイズおよびウエスト囲に経時的な減少傾向が認められたことから、内臓脂肪の燃焼により体脂肪率が減少したとことが示唆された。尿による漢方座浴後の尿中重金属の濃度は、0 週目に比べて 4 週目, 8 週目, 12 週目に有意な低下が認められた。特に 12 週目において最も低下が認められた。

漢方座浴の温熱効果とハーブは、酸化防止剤として酸化反応に触媒作用を呈する重金属を不活性化するキレート剤の効果の可能性もあり、解毒剤としても期待される。

はじめに

近年、日本のような先進国において肥満者が増加している。肥満は皮下脂肪が多い場合と内臓の臓器に脂肪がついてしまっている場合があり、さまざまな病気につながると考えられている。この肥満を解消したダイエットとは体重を急減することではなく、より健康になることが本来の目的である¹⁻²⁾。

YOSA (SHINY) は体の奥深くから老廃物を排出し、自然治癒力を高め、細胞の潤いを取り戻すハーブエステである。YOSA (SHINY) は漢方「ハーブ」を水蒸気化して体内に取り入れることで、細胞本来の回復力を高める。また体は冷えると水分と脂肪をため込むため、体を芯から温め、脂肪を燃焼させることで、基礎代謝を上げる。また、ハーブは新陳代謝を促進し、自律神経の安定、ホルモンや身体のバランスを整え、体内の老廃物を分解・排出を促進したといわれる。

そこで本試験においては、ハーブ水溶液の蒸気を全身にあて、ダイエット効果、抗酸化効果、美肌効果および基礎代謝への影響の有無について検討した。

1. 研究方法

1-1. 対象と方法

被験者に対しては本試験の目的、試験方法、予想される結果などについて十分説明した後、同意が得て、書面において参加の意思が確認し、健常成人の女性 15 名、男性 5 名を対象とした。なお、試験内容は大学内倫理委員会において承認と世界医師会総

会 (World Medical Assembly) において承認されたヘルシンキ宣言 (1964 承認, 2002 修正) の精神に則って実施した。

試験薬剤 (ハーブパック ; 2g/ パック) の成分は、トウキ, センキュウ, 温州ミカン皮, クロブ, よもぎ葉, いえぎく, 八角, 橙果実, よろいぐさ根, よもぎ花, ハッカ, 半夏生, くず根) である。1L の水で 60 沸騰させた。

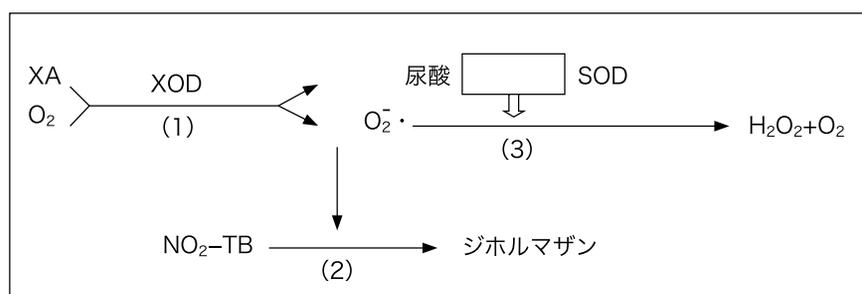
使用機器としては、YOSA (株) から提供された漢方座浴機器である YOSA-SHINY を用いた。

試験方法は、20 から 50 代の男女を対象に行った。試験は週 2 回とし、1 回に 60 分間 YOSA (SHINY) を使用した。また、基礎代謝の指標として体温測定を毎朝起床時に測定した。

YOSA (SHINY) 本体の水槽内プラケットにハーブパック (内容量 : 30g, バイオステージ (株)) を挟み込むように装着し水を入れ、YOSA チェアの引き出しの中に YOSA (SHINY) をセットしてヒーターの温度を設定した。メイクを落としチャコールケープを着用して、ヒーターの温度が適正 (45-50°C) になったら YOSA (SHINY) チェアに 60 分間座る。随時、水分を補給したことを基本とした。

試験開始 0, 4, 8 および 12 週後に観察を行った。観察日は鈴鹿医療科学大学健康管理センターに集合し、以下に示す項目の諸検査、測定および調査を行った。

YOSA の実験手順を以下に従って行った。YOSA の機械に水を入れ、スタートを押す。タイマー 60 分, レベル 10 (1000w)。YOSA アクト (緑茶) 5g をコッ



Model.1 SOD 様活性測定原理のモデル

プ一杯分のお湯に溶かし、飲ませた。ペーパートランクス, YOSA ウェア, チタンエッジケープに着替え後, YOSA 内の水の沸騰後, レベルを 5 (600w) に設定した。YOSA チェアに座って水分を補給しながら行った。

1-2. 生理学的検査；検査項目

身長 (cm), 体重 (kg), 体脂肪 (%), ウエスト囲 (cm), ヒップ囲 (cm) の測定を行った。座浴を行った前後に体重と体脂肪量を測定した。測定した機器は, オムロン社の体重・体組成計のカラダスキャン両手両足測定タイプ HBF-701 である。

1-3. 臨床検査；検査項目

被験者から 10 mL の血液を採取し, 以下の項目に関して (株) ファルコバイオシステムの臨床検査部に委託し, 標準的検査法により測定した。採血時間は検査日 10:00 を基本とした。標準的検査項目は, 肝機能 (GOT, GPT), 脂質代謝 (総コレステロール, LDL- コレステロール, HDL- コレステロール, 中性脂肪, 糖代謝 (グルコース, HbA1c) などを測定した。

1-4. SOD 様活性の測定

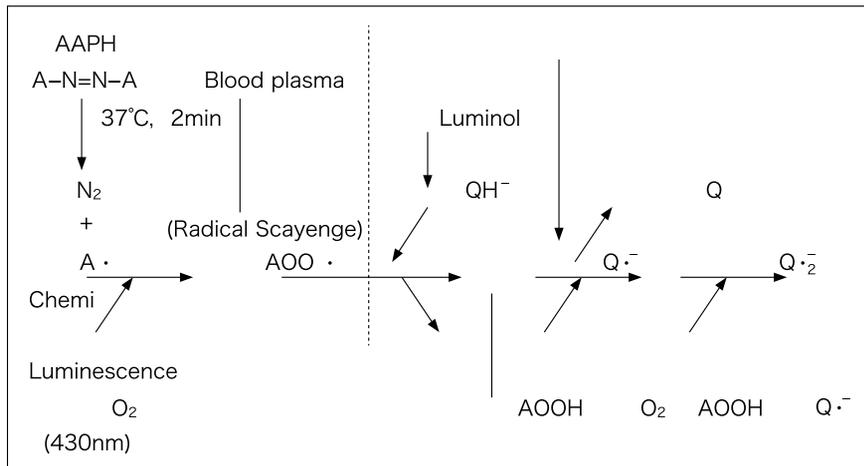
被験者から 1 mL の血液を採取し, 血液凝固防止のためにヘパリン処理 (100 単位/mL) した後遠心分離し, 得られた血清をサンプルとして用いて SOD (superoxide dismutase) 様活性度を求めた。SOD 様活性の測定には, 和光純薬工業株式会社製 SOD Activity Detection Kit を用いて, NBT 還元法による血清中の SOD 様活性度の測定を行った。NBT 還元法は, O_2^- ラジカルの検出剤として, NO_2-TB (ニトロブルーテトラゾリウム) を用い, O_2^- ラジカルの生成反応 (キサンチンとキサンチンオキシダーゼ)

と SOD による不均化反応とを共役させ, O_2^- ラジカルによる還元呈色が低下した程度を阻害率として SOD 様活性度を求める方法であり, 抗酸化活性を定量的に測定した。Model.1 に SOD 様活性測定原理のモデルを示した。

キサンチン (発色試液 (XA)) にキサンチンオキシダーゼ (酵素液 (XOD)) が作用した後, O_2^- が生成した (1)。生成した O_2^- は共存した NO_2-TB (発色試液) を還元し, ジホルマザンを生成した (2) が, 反応液中にスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の存在下で, O_2^- の一部は H_2O_2 と O_2 に不均一化され (3), ジホルマザンの形成が減少した。

したがって, O_2^- と NO_2-TB との反応に基づくジホルマザン形成の減少の程度を, 阻害率として求めることにより, 試料中の SOD 活性値を求めた。

測定法は, 被験者の静脈採血により, テルモ社製シリンジ (針: 23 G) を用いて, 全血の採血を行った。血液凝固防止のためにヘパリン処理 (5 単位/ml) した後, 遠心分離 (1000 rpm, 10 min (2~4°C)) にかけて得られた血清を用いた。この血清をサンプルとして, 検体 (S), 盲検 (BI), 検体盲検 (S-BI), 試薬盲検 (BI-BI) をたて, 96 穴マイクロプレートに各サンプルを 10 μ L/well ずつ分注を行った。その際の分注は, 検体 (S) と検体盲検 (S-BI) には血清を, 盲検 (BI) と試薬盲検 (BI-BI) には蒸留水とした。各サンプルの分注後, 発色試薬を 100 μ L/well ずつ分注し, 1 分間攪拌を行い, その後, 検体 (S) と盲検 (BI) には酵素溶液, 検体盲検 (S-BI) と試薬盲検 (BI-BI) にはブランク液を 100 μ L/well ずつ分注し, 再び 1 分間の攪拌後, 37°C で 28 分間正確にインキュベートとした。インキュベート後, 各サンプルに反応停止液を 20 μ L/well ずつ分注し, 5 分間の攪拌後, 東洋曹達株式会社製マイクロプレートリーダー MPRA4 を用いて波長 560 nm にて吸光度



Model.2 血清によるケミルミネッセンス抑制機構のモデル

を測定した。測定より得られた吸光度から (1) 式により SOD 様活性度を求める。Model.2 に測定手順のフローチャートを示した。

$$\text{SOD 様活性度 (阻害率 \%)} = \frac{(E_{B1}-E_{B1-B1})-(E_S-E_{S-B1})}{(E_{B1}-E_{B1-B1})} \times 100 \quad (1)$$

E_S : 検体の吸光度 E_{B1} : 盲検の吸光度 E_{S-B1} : 検体盲検の吸光度 E_{B1-B1} : 試薬盲検の吸光度

1-5. ケミルミネッセンス法による抗酸化測定 (AAPH 法)

2, 2-アゾビス (2-アミジノプロパン) 二塩酸塩 (AAPH) の加温発生ラジカルとアルカリ条件下のルミノール発光を組み合わせた系を用い測定した。Fig.2 に血清によるケミルミネッセンス抑制機構のモデルを示した。

AAPH 試薬は 37°C でペルオキシラジカル (AOO·) を発生した。ペルオキシラジカルとルミノール由来のセミキノラジカルが反応したことにより化学発光したが、このときラジカルスカベンジ能力を有した血清が存在したと、セミキノラジカルと反応したペルオキシラジカル量が減少したため化学発光が減少したと判断した。

実験試薬は以下のものを用いた。試薬の調製方法は以下の手順で行った。

1. 0.1M Na₂HPO₄ 溶液

Na₂HPO 47.098 g を Distilled Water (蒸留水) に溶かし、500mL にメスアップした。

2. 0.1M NaH₂PO₄ 溶液

NaH₂PO 45.999 g を D.W. に溶かし、500 mL にメスアップした。

3. 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0)

0.1M Na₂HPO₄ 溶液 305mL+0.1M NaH₂PO₄ 溶液 195 mL とした。

4. AAPH 試薬

2,2-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) (和光純薬) 5.4238g を 0.1M リン酸緩衝液に溶解させ 500mL にメスアップした。

5. 0.05M ホウ酸緩衝液 (pH9.3)

ホウ酸 1.54575g を 400mL の D.W. に溶かし、1M NaOH で pH9.3 に合わせた後 500mL までメスアップした。

6. 1M NaOH

20g の NaOH を D.W. に溶かし 500mL にメスアップした。

7. ルミノール試薬

50.438mg の CytochromeC チトクローム C (和光純薬) と 9.744mg の Luminol ルミノール (和光純薬) を 0.05M ホウ酸緩衝液 (pH9.3) : メタノール = 1 : 3 の割合の溶液に溶かして 500mL にメスアップした。測定試料は静脈採血に得られた血液を遠心分離 (1000rpm, 10min (2~4°C)) し上澄み (血清) を用いた。血清をラウンドチューブに 100μL 採り 900μL の 0.1M リン酸緩衝液を添加混合し、10 倍希釈した。この溶液をラウンドチューブに 100μL 採り 900μL の 0.1M リン酸緩衝液を添加混合しさらに 10 倍希釈し 100 倍希釈した。

100 倍希釈した血清をラウンドチューブに 200μL 採り同量の AAPH 試薬を添加混合した。測定試料は一人につき 2 本作り、その平均を用いる。ブランク液は 0.1M リン酸緩衝液 200 μL+AAPH 200 μL

とした。

測定は測定試料をアロカ社製 BLR-201 ルミネッセンスリーダーに入れ 2 分間 37°C で加温し、ルミノール試液を入れ、20 秒反応させた後、発光量を測定し、blank (全発光量) よりそれぞれの試料の発光量を引き抗酸化活性度を求める。

1-6. その他の検査

被験者から尿を採取して成分分析を行い、detoxification 効果を検討した。また、YOSA (SHINY) 実験前に採取した尿を対照群とした。測定項目は、尿による金属元素 (銅, 鉛, 亜鉛, マグネシウム, カドミウム, ナトリウム) の濃度を測定した。

1-7. 統計解析

結果はすべて平均値 ± 標準誤差で示した。有意差検定は、*t* 検定およびクロスオーバーの単回実施試験では対応のある *t* 検定で、連続実施試験では対応のない DUNETT 検定にて行い、両側検定で 5% 以下を有意水準とした。

2. 研究結果

2-1. 抗酸化作用

①ルミノール測定結果

縦軸に測定した発光強度をとり、YOSA (SHINY) 浴後の 0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の血清におけるペルオキシラジカルに対するスカベンジング作用の結果を Fig. 1 に示した。0 週目の発光強度 0.073

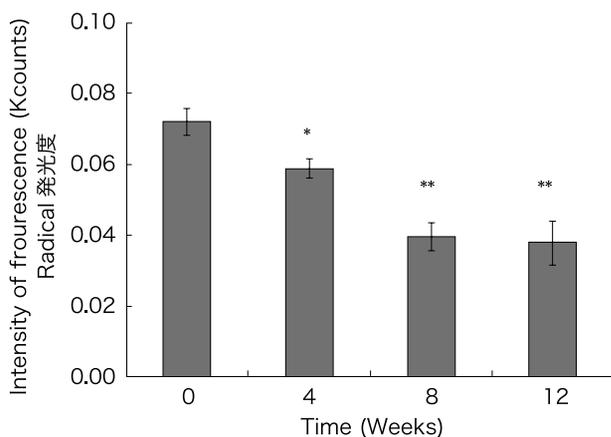


Fig.1 Effect of new YOSA on blood levels of anti oxidation activity in human serum.

DW, new YOSA were treatment for 12weeks. The results represent the mean ± S.E. (n=20). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

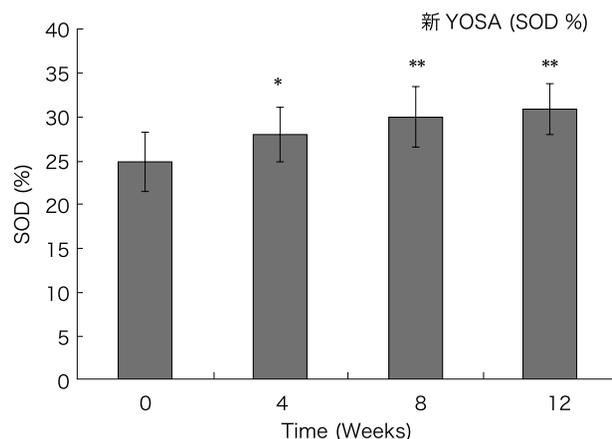


Fig. 2 Effect of new YOSA on blood levels on SOD activity (inhibition rate, %) in human serum.

DW, new YOSA were treatment for 12weeks. The results represent the mean ± S.E. (n=20). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

± 0.003 Kcounts と比較して、4 週目 (0.058 ± 0.002 Kcounts) で、8 週目 (0.039 ± 0.004 Kcounts)、12 週目 (0.038 ± 0.006 Kcounts) とともに有意 ($p < 0.01$) な発光抑制が見られ、さらに 8 週目以後 (0.031 ± 0.004 Kcounts) において発光強度の減少が顕著 ($p < 0.01$) であった。このことから、YOSA (SHINY) 浴群にペルオキシラジカルスカベンジング作用が期待でき、さらに、相乗効果があることが示唆された。

② SOD 様活性度測定

縦軸に測定した SOD 活性度 (%) をとり、YOSA (SHINY) 浴後の 0 週目、4 週目、8 週目、12 週目群の血清におけるラジカルに対する抗酸化作用の結果を Fig. 2 に示した。

0 週目の発光強度 25 ± 3.3 % と比較して、4 週目 28 ± 3.2 % で、8 週目 30 ± 3.5 %、12 週目 31 ± 2.8 % とともに SOD 活性度の増加が顕著 ($p < 0.01$) であった。このことから、4 週目、8 週目、12 週目に対する抗酸化作用認められ、特に長期使用に対する抗酸化作用があることが示唆された。

2-2. 体内 detoxification 効果

①血中の尿素、乳酸、アンモニア濃度の結果

血中の尿素濃度

YOSA (SHINY) 浴後後の血中の尿素濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の血清における尿素濃度の結果を Fig. 3 に示した。

0 週目 13.2 ± 0.32 mg/dL と比較して、4 週目 11.1 ± 0.27 mg/dL で、8 週目 11.3 ± 0.21 mg/dL、12 週目

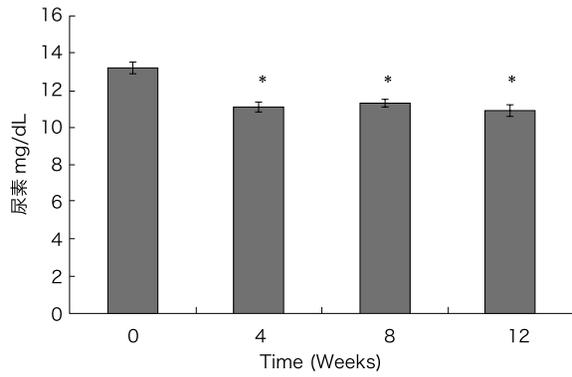


Fig.3 Blood urea in YOSA (SHINY) bath group (mg/dL). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

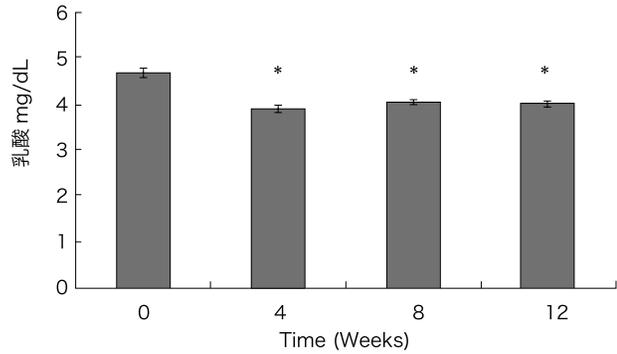


Fig.4 Blood urea in YOSA (SHINY) bath groups (mg/dL). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

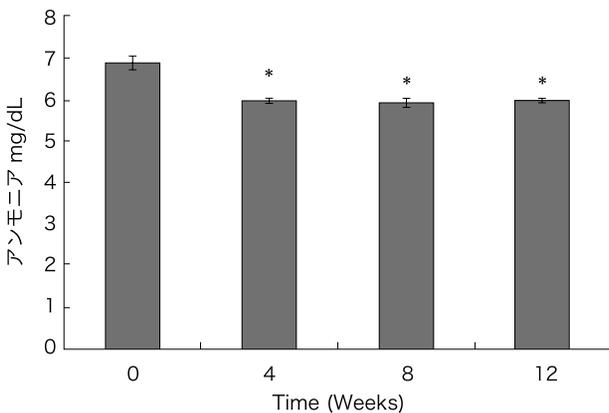


Fig.5 Blood ammonia level in YOSA (SHINY) bath groups (mg/dL). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

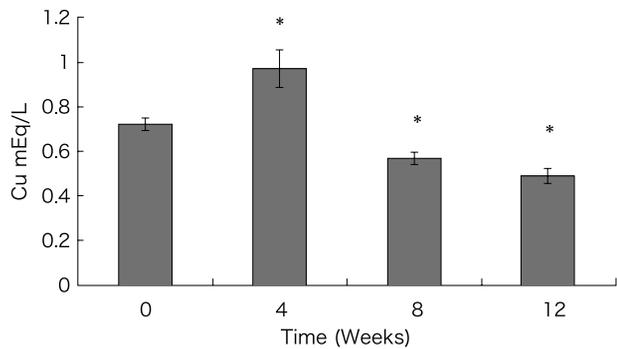


Fig.6 Urinary copper concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L). Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

10.9 ± 0.31 mg/dL では、有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

血中の乳酸濃度

YOSA (SHINY) 浴後の血中の乳酸濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の血清における乳酸濃度の結果を Fig. 4 に示した。

0 週目 4.69 ± 0.11 mg/dL と比較して、4 週目 3.91 ± 0.07 mg/dL で、8 週目 4.04 ± 0.04 mg/dL、12 週目 4.01 ± 0.06 mg/dL と有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

血中のアンモニア濃度

YOSA (SHINY) 浴後の血中の尿素濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の血清における尿素濃度の結果を Fig. 5 に示した。

0 週目 6.8 ± 0.16 mg/dL と比較して、4 週目 5.98 ± 0.06 mg/dL で、8 週目 5.93 ± 0.11 mg/dL、12 週目 5.98 ± 0.14 mg/dL では、有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

②尿による金属元素（銅、鉛、亜鉛、マグネシウム、カドミウム、ナトリウム）の検査の結果

尿による銅の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の血中の銅の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の血清における銅の濃度の結果を Fig. 6 に示した。

0 週目 0.72 ± 0.02 mEq/L と比較して、4 週目 0.97 ± 0.08 mEq/L 増加が見られ、8 週目 0.57 ± 0.03 mEq/L、12 週目 0.49 ± 0.03 mEq/L では低下が認められた ($p < 0.05$)。

尿による鉛の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の尿中鉛の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の尿中鉛の濃度の結果を Fig. 7 に示した。

0 週目 0.49 ± 0.02 mEq/L と比較して、4 週目 0.7 ± 0.02 mEq/L では増加が見られ、8 週目 0.37 ± 0.02 mEq/L、12 週目 0.39 ± 0.02 mEq/L では、有意な低下

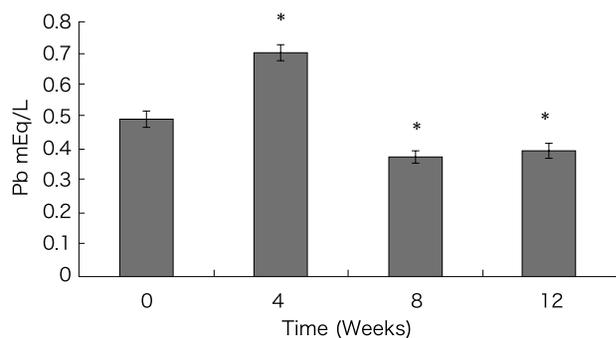


Fig.7 Urinary lead concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L).

Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

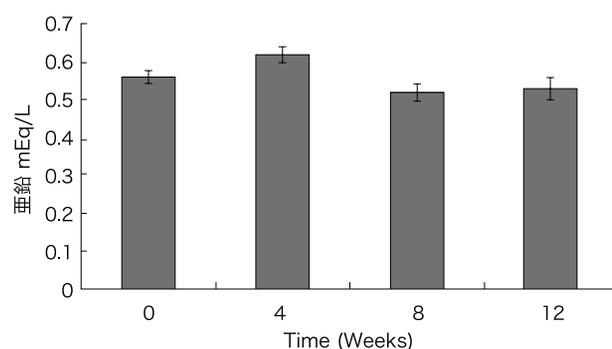


Fig.8 Urinary copper concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L).

Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

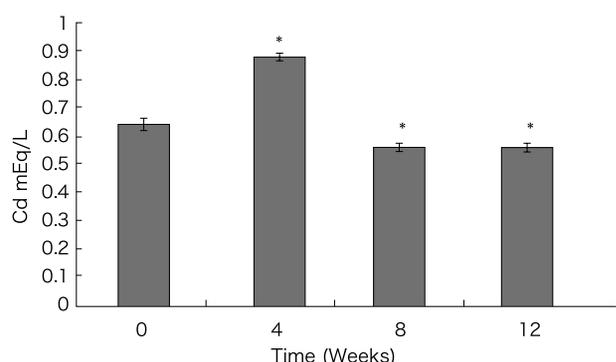


Fig.9 Urinary Cd concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L).

Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

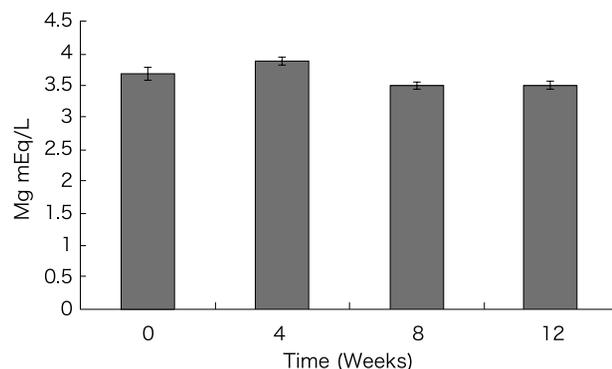


Fig.10. Urinary Mg concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L).

Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

が認められた ($p < 0.05$)。

尿による亜鉛の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の尿中亜鉛の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の尿中亜鉛の濃度の結果を Fig. 8 に示した。

0 週目 0.56 ± 0.01 mEq/L と比較して、4 週目 0.62 ± 0.02 mEq/L で増加が見られ、8 週目 0.52 ± 0.02 mEq/L、12 週目 0.53 ± 0.03 mEq/L では、低下が認められた。

尿による Cd の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の尿中 Cd の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の尿中 Cd の濃度の結果を Fig. 9 に示した。

0 週目 0.64 ± 0.02 mEq/L と比較して、4 週目 0.88 ± 0.01 mEq/L では増加が認められ、8 週目 0.56 ± 0.01 mEq/L で、12 週目 0.56 ± 0.01 mEq/L では有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

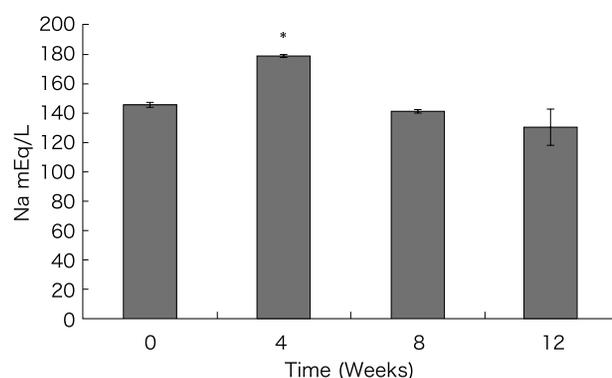


Fig.11. Urinary Na concentration in YOSA (SHINY) bath groups (mEq/L).

Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

尿による Mg の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の尿中 Mg の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目、YOSA (SHINY) 浴群の尿中 Mg の濃度の結果を Fig.10 に示した。

0 週目 3.68 ± 0.10 mEq/L と比較して、4 週目 3.88 ± 0.06 mEq/L、8 週目 3.51 ± 0.05 mEq/L、12 週目 3.51

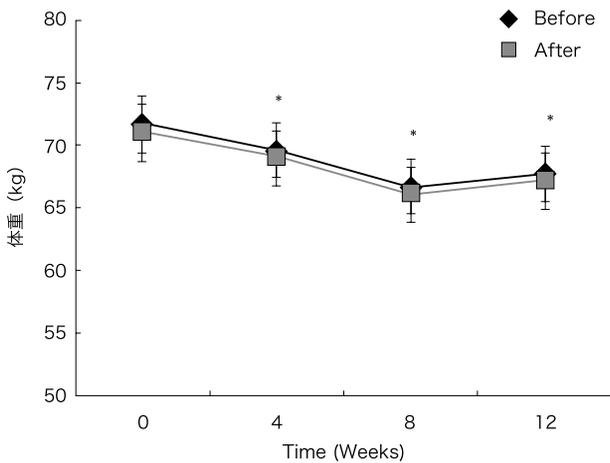


Fig.12. Changes in average body weight over time after YOSA (SHINY).

The result represents the mean value ± S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

± 0.06 mEq/L と差はなかった。

尿による Na の濃度

YOSA (SHINY) 浴後の尿中 Na の濃度は、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目、YOSA (SHINY) 浴群の尿中 Na の濃度の結果を Fig. 11 に示した。

0 週目 145.3 ± 1.26 mEq/L と比較して、4 週目 179 ± 0.88 mEq/L と最も増加が認められた ($p < 0.05$)。しかし、8 週目 141.3 ± 1.61 mEq/L で、12 週目 130.1 ± 12.14 mEq/L と有意差が認められなかった。

3-3. 生理学的検査

体重の変化

体重の測定結果を Fig. 12 に示す。YOSA 実施前 0 週目の平均体重は 71.7 ± 2.29kg で、YOSA 実施後 0 週目の平均体重は 71.0 ± 2.27kg と比較して、YOSA 実施前 4 週目の平均体重は 69.6 ± 2.1kg で、YOSA 実施後 4 週目の平均体重は 68.95 ± 2.18kg、YOSA 実施前 8 週目の平均体重は 66.7 ± 2.2kg で、YOSA 実施後 8 週目の平均体重は 66.0 ± 2.2kg、YOSA 実施前 12 週目の平均体重は 67.7 ± 2.3kg、YOSA 実施後 12 週目の平均体重は 67.1 ± 2.2kg と減少が認められた ($p < 0.05$)。

体脂肪率の変化

体脂肪率の測定結果を Fig. 13 に示す。YOSA 実施前 0 週目の体脂肪率は 33.4 ± 0.57% で、YOSA 実施後 0 週目の体脂肪率は 32.4 ± 0.57% と比較して、YOSA 実施前 4 週目の体脂肪率は 32 ± 0.48% で、YOSA 実施後 4 週目の体脂肪率は 31 ± 0.48%

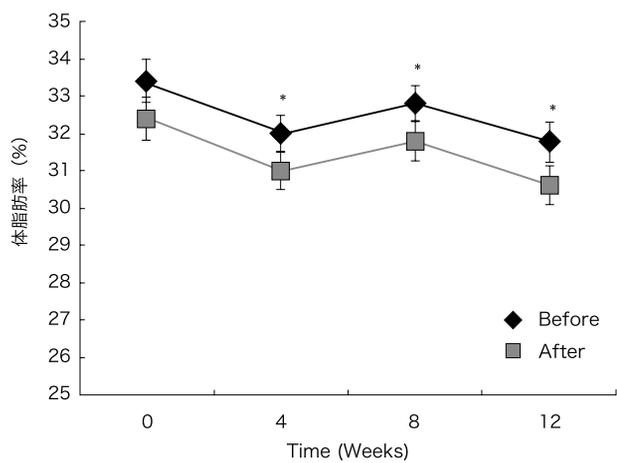


Fig.13. Changes in body fat percentage over time after YOSA (SHINY).

The result represents the mean value ± S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

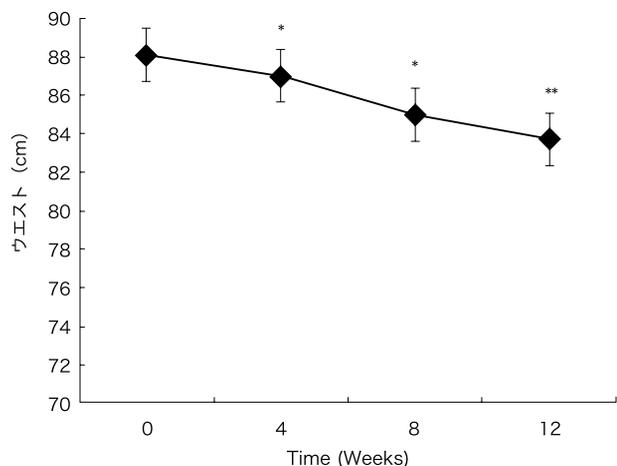


Fig.14. Changes in waist over time after YOSA (SHINY).

The result represents the mean value ± S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

YOSA 実施前 8 週目の体脂肪率は 32.8 ± 0.48% で、YOSA 実施後 8 週目の体脂肪率は 31.8 ± 0.53%、YOSA 実施前 12 週目の体脂肪率は 31.77 ± 0.53%、YOSA 実施後 12 週目の体脂肪率は 30.6 ± 0.51kg と減少が認められた ($p < 0.05$)。

ウエストの変化

ウエストの測定結果を Fig. 14 に示す。YOSA 実施後 0 週目のウエストは 88.1 ± 1.38cm と比較して、4 週目のウエストは 87 ± 1.37cm ($p < 0.05$)、8 週目のウエストは 85 ± 1.36cm ($p < 0.05$) で、12 週目のウエストは 83.7 ± 1.36cm と減少が認められた ($p < 0.01$)。

ヒップサイズの変化

ヒップサイズの測定結果を Fig. 15 に示す。YOSA

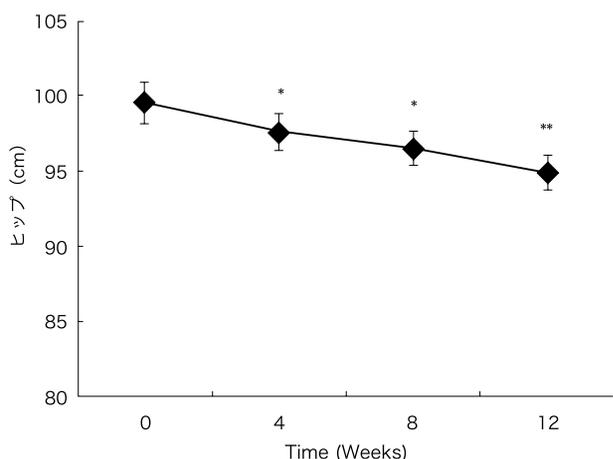


Fig.15. Changes in hip size over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

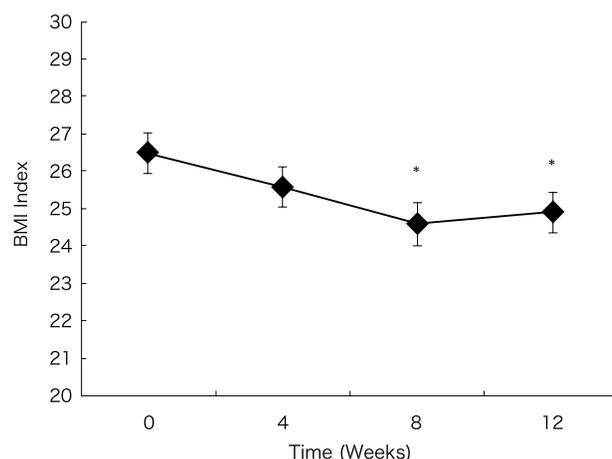


Fig.16. Changes in BMI over time after implementation of YOSA (SHINY).

The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

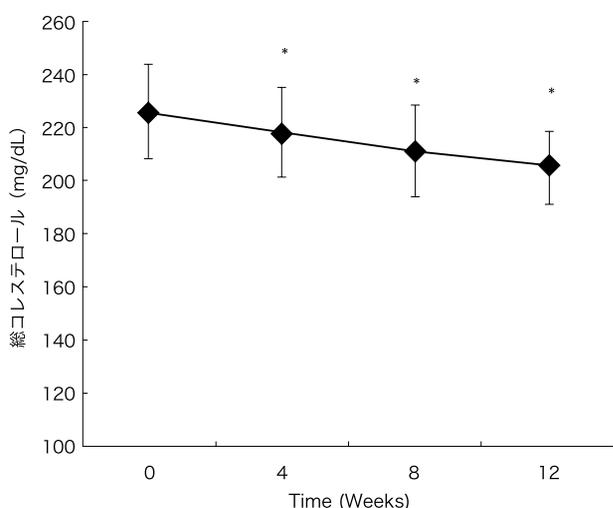


Fig.17. Changes in total cholesterol measurements over time after YOSA (SHINY).

The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

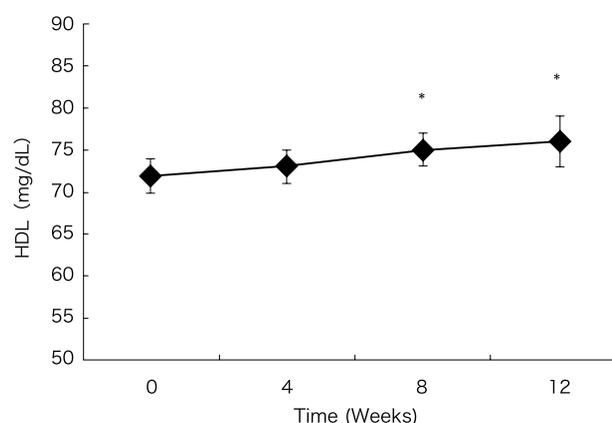


Fig.18. Changes in HDL-cholesterol measurements over time after YOSA (SHINY).

The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

実施後0週目のヒップサイズは99.5 \pm 1.31cmと比較して、4週目のヒップサイズは97.6 \pm 1.18cm ($p < 0.05$), 8週目のヒップサイズは96.5 \pm 1.16cm ($p < 0.05$)で、12週目の94.9 \pm 1.10cmと減少が認められた ($p < 0.01$)。

BMIの変化

BMIの測定結果をFig.16に示す。YOSA実施後0週目のBMIは26.5 \pm 0.56と比較して、4週目のBMIは25.6 \pm 0.54cm, 8週目のBMIは24.6 \pm 0.57cm ($p < 0.05$)で、12週目のBMIは24.9 \pm 0.56cmと減少が認められた ($p < 0.05$)。

2-4. 臨床検査

総コレステロールの測定値

総コレステロールの測定値をFig. 17に示す。総コレステロールは0週(226 \pm 4 mg/dL)と比較すると4週(218 \pm 4 mg/dL), 8週(211 \pm 4 mg/dL), 12週(205 \pm 3 mg/dL)に減少が認められた ($p < 0.05$)。

HDL-コレステロールの測定値

HDL-コレステロールの測定値をFig. 18に示す。HDL-コレステロールは0週(72 \pm 2 mg/dL)と比較すると4週(73 \pm 2 mg/dL)であり、8週(75 \pm 2 mg/dL)と12週(76 \pm 3 mg/dL)に増加が認められた ($p < 0.05$)。

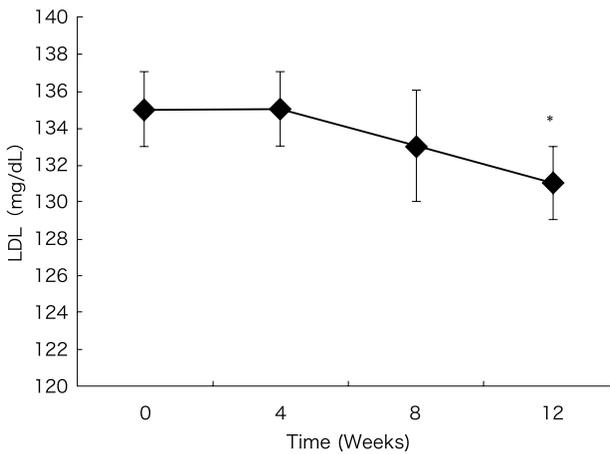


Fig.19. Changes in LDL-cholesterol measurements over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

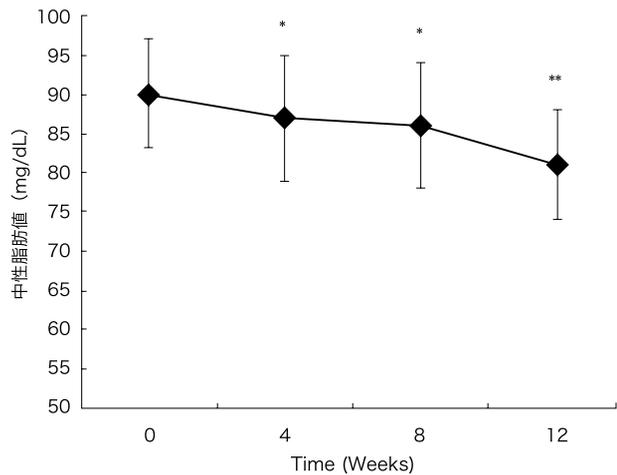


Fig.20. Changes in measured values of triglyceride over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

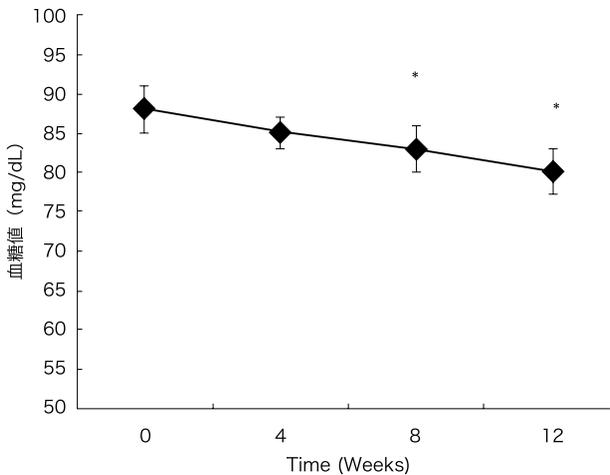


Fig.21. Changes in blood glucose measurements over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

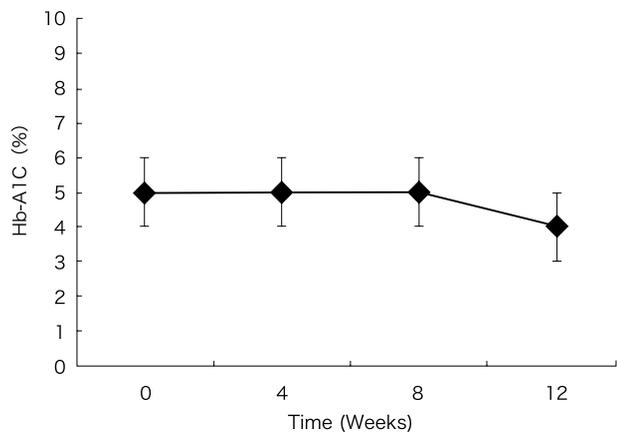


Fig.22. Changes in Hb-A1C measurements over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

LDL- コレステロールの測定値

LDL- コレステロールの測定値を Fig. 19 に示す。LDL- コレステロールは0週 (135 \pm 9 mg/dL) と比較すると4週 (135 \pm 10 mg/dL), 8週 (133 \pm 11 mg/dL) であり, 特に12週 (131 \pm 11 mg/dL) に減少が認められた ($p < 0.05$)。

中性脂肪の測定値

中性脂肪の測定値を Fig. 20 に示す。中性脂肪は0週 (90 \pm 33mg/dL) と比較すると4週 (87 \pm 34 mg/dL), 8週 (86 \pm 37mg/dL) ($p < 0.05$) であり, 特に12週 (81 \pm 31 mg/dL) に減少が認められた ($p < 0.01$)。

血糖値の測定値

血糖値の測定値を Fig. 21 に示す。血糖値は0週 (88 \pm 12mg/dL) と比較すると4週 (85 \pm 11 mg/dL) であり, 特に8週 (83 \pm 11mg/dL) と12週 (80 \pm 12 mg/dL) に減少が認められた ($p < 0.05$)。

Hb-A1C の測定値

Hb-A1C の測定値を Fig. 22 に示す。Hb-A1C は0週 (5 \pm 1%) と比較すると4週 (5 \pm 1%), 8週 (5 \pm 1%), 12週 (4 \pm 1%) と特に変化はなかった。

AST の測定値

AST の測定値を Fig. 23 に示す。AST (GOT) は0週 (27 \pm 2 IU/L) と比較すると4週 (25 \pm 2 IU/L)

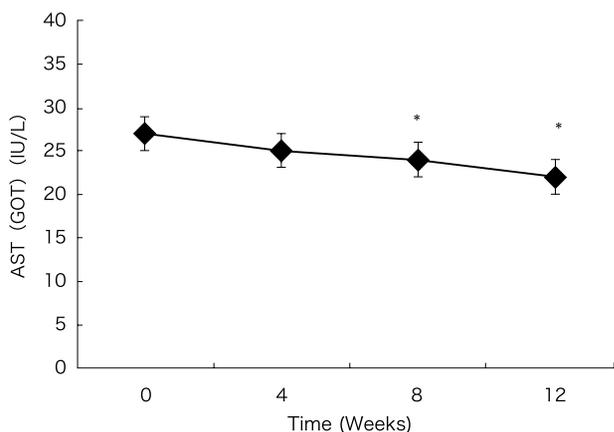


Fig.23. Changes in AST (GOT) measurements over time after YOSA (SHINY) implementation. The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

であり,特に8週 (24 \pm 2 IU/L) と12週 (22 \pm 2 IU/L) に減少が認められた ($p < 0.05$).

ALT の測定値

ALT の測定値を Fig. 24 に示す。ALT (GPT) は0週 (29 \pm 2 IU/L) と比較すると4週 (28 \pm 2 IU/L) であり,特に8週 (27 \pm 2 IU/L) と12週 (25 \pm 2 IU/L) に減少が認められた ($p < 0.05$).

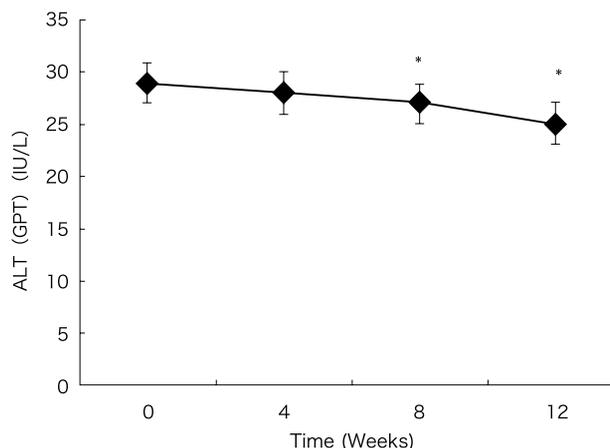


Fig.24. Changes in ALT (GPT) measurements over time after YOSA (SHINY). The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

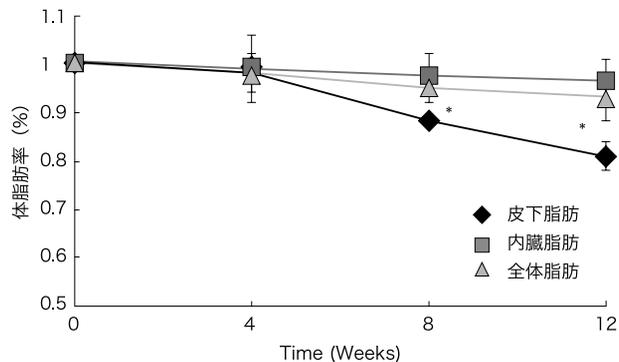


Fig.25. Time course of fat extraction analysis using MRI images of subcutaneous fat, visceral fat and whole fat in 0W-12W. The result represents the mean value \pm S.E. Asterisks indicate groups significantly different from control at $p < 0.05$ (*) and control at $p < 0.01$ (**).

2-5. 脂肪抽出の結果

下記に,それぞれの部位における脂肪増減比の平均値を示す。皮下脂肪, 内臓脂肪, 脂肪全体において, 脂肪の減少傾向は見られなかった。しかし, 個人のデータをそれぞれ比較すると, 脂肪の減少と増加している数は半々なので個体差が大きいと考えられる (Table.1)。

Table1 0W-12Wにおける皮下脂肪, 内臓脂肪および全体脂肪のMRI画像による脂肪抽出解析

計測部位		測定時期			
		0W	4W	8W	12W
皮下脂肪	Ave.	1	0.98	0.88	0.81
	S.E	0	0.02	0.01	0.03
内臓脂肪	Ave.	1	0.99	0.97	0.96
	S.E	0	0.07	0.05	0.05
脂肪全体	Ave.	1	0.98	0.95	0.93
	S.E	0	0.04	0.03	0.05

3. 考察

3-1. 抗酸化作用

肥満の特徴は, 食事と運動不足に伴い有病率が增加することであり, 新陳代謝が密接に関連することは広く知られている¹⁻³⁾。酸素を利用しエネルギーを得る生体内では, 常に活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) が産生されている⁴⁻⁸⁾。ROSはその高い反応性からタンパク質, 脂質, DNAなどの機能分子を修飾することで, 細胞機能の障害を引き起こす。細胞はROSに対する防御機構を備えているが, 細胞の内外で過剰に産生されるROSを十分に処理できないときにOSが生じる。ADを含めた神経変性疾患の発症にROSの関与が指摘されている⁹⁻¹²⁾。また, 生体のOS防御に関わる物質は,

SOD, グルタチオン・ペルオキシダーゼなどのフリーラジカル発生防止型抗酸化物質, ビタミンC, ビタミンE, フラボノイドなどのフリーラジカル補足型抗酸化物質, およびリパーゼ, プロテアーゼなどの酸化傷害修復酵素に分けられる¹³⁾。

YOSA (SHINY) は, 温熱効果とハーブの抗酸化物質により, ペルオキシラジカルを消去し, アゾ化合物によるLDLの酸化を抑制し, これらの活性酸素種に対する消去作用の主な成分はフラボノイドであることが報告されている¹⁴⁻¹⁷⁾。

本研究では, $O_2^{\cdot-}$ 分解酵素であるSOD様の活性度およびAAPH由来のペルオキシラジカルの消去能を抗酸化作用の指標としYOSA (SHINY) の温熱効果とハーブの抗酸化作用に対する影響を検討した。

YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブにおいてSOD様の活性は認められた。また, AAPH由来のルミノール発光強度が顕著に抑制されたことから, YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブに含まれるフラボノイド等がラジカルを補足あるいは細胞内情報伝達を活性化することにより, ペルオキシラジカルをスカベンジングし, 生体内のOSを減弱させることが推察された。また, YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブにおけるラジカルスカベンジング能が大きかったことから抗酸化作用が期待できる。従って, YOSA (SHINY) は, 抗酸化作用より, 体内の汚れを除去すると考えられる。

3-2. YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブによる detoxification 効果

本研究では, 肥満社会に向かって, YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブの detoxification 効果について検討を行った。本研究では, 温熱とハーブの誘導体からなる天然物を有効成分として含有する detoxification 効果が考えられる¹⁶⁻¹⁸⁾。

血液より, 尿素, 乳酸, アンモニアなどを液体クロマトグラフィで検査した結果と尿による金属元素の検査による銅, 鉄, 鉛, 亜鉛, マグネシウム, カドミウム, カルシウム, ナトリウム等を液体クロマトグラフィで検査したから, YOSA (SHINY) 浴後の血中の尿素濃度は, 0週目に比べ, 4週目, 8週目, 12週目でも, 有意な detoxification 効果が認められた。その中でも特に12週目では, 最も効果が著しく, 効果が認められた。これらの微量元素は鉛カドミウ

ムを除いて生体にとって必須で有るので, 正常範囲以上の変化のみを害とみなした。

尿による YOSA (SHINY) 浴後の尿中重金属の濃度は, 0週目に比べて4週目, 8週目, 12週目に有意な低下が認められた特に12週目において最も低下が認められ, 効果が認められた。

YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブは, 酸化防止剤として酸化反応に触媒作用を呈する重金属を不活性化するキレート剤の可能性もあり, 解毒剤としても期待される。解毒作用により体内の活性酸素を排出する働きを有することが明らかとなり, 体内消臭効果も期待される¹⁹⁻²³⁾。本研究では, YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブの継続使用によって抗酸化作用や新陳代謝により, 体内老廃物(尿素, 乳酸, アンモニアなど)排泄による detoxification 効果が期待される。

3-3. 生理学的検査

体脂肪測定において, 本試験ではインピーダンス法を使用した体脂肪体重計を用いた。体脂肪の評価としては, 男性は10-20%, 女性は20-30%が標準値である。

測定結果より, 0週目に比べ, 4週目から12週目と標準値内での減少傾向が認められた。また, 体重, BMI, ヒップサイズおよびウエスト囲に経時的な減少傾向が認められたことから, 内臓脂肪の燃焼により体脂肪率が減少したとことが示唆された。体脂肪には重金属類(ヒ素・鉛・水銀・カドミウムなど)が沈着しやすく, 単に汗をかくだけではその付着した重金属類も流れ出すことはなかなか難しく, 脂肪そのものも減少しにくくなっている。よって, YOSA (SHINY) により新陳代謝力が上昇し, ハーブによって体内の老廃物を分解・排出を促進し解毒作用が働いたと考えられる。

3-4. 臨床検査

総コレステロールの基準値, LDL-コレステロール値は, 0週目に比べて4週目, 8週目, 12週目に有意な低下が認められた特に12週目において最も低下が認められ, 効果が認められた。HDL-コレステロール値は, 0週目に比べて8週目と12週目に有意な増加が認められた。コレステロールは細胞膜あるいは細胞内の構造物の重要な構成因子のひとつ

であり、胆汁酸生成などに関する重要な生体内物質である⁸⁾。近年、血漿中のコレステロール濃度が上昇する高コレステロール血症が増加しており、動脈硬化、脳動脈硬化、心筋梗塞、脳血栓との関連で、特に強い関心が払われている。血液中のグルコースは肝細胞内で様々な過程を経てアセチル CoA を生成し、さらにアセチル CoA はオキザロ酢酸と縮合してクエン酸を生成し、クエン酸サイクルで分解される。このときクエン酸サイクルが機能しないと、蓄積したアセチル CoA はメバロン酸を経由してコレステロールを生成する⁹⁾。LDL (低比重リポたんぱく) は血液中に増加すると沈殿して動脈硬化を引き起こす原因となり、一方 HDL (低比重リポたんぱく) はそれを除去する抗動脈硬化作用がある。したがって HDL が低いと動脈硬化が進展しやすく、高いと起こりにくいとされている³⁾。そこで、YOSA (SHINY) の各種コレステロール値への影響について検討した。測定結果より、0 週と比較して、4 週 -12 週までは LDL- コレステロールの減少が認められ、総コレステロール濃度の減少が示された。よって、YOSA (SHINY) の熱刺激により血流が改善され、クエン酸回路が活性化されることによりアセチル CoA の蓄積が防がれ、コレステロール値が減少したと考えられる。

中性脂肪の基準値は 35-149 mg/dL である (メディック(株)検査基準値より)。中性脂肪はグルコースとともに、人体のエネルギー源として全身の脂肪組織に貯蓄されており、内臓脂肪型肥満や動脈硬化、脂肪肝等の原因にもなり得る¹⁻²⁾。測定結果より、0 週と比較して 4 週 -12 週まで中性脂肪値が減少したことから、熱刺激による血流の改善により脂肪の分解能が上昇したと考えられる。

3-5. MRI 臨床検査

脂肪細胞には、白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞があ

り、白色脂肪細胞は、脂肪を貯める。この白色脂肪細胞増やす遺伝子の一部が変異し、摂取したエネルギーの吸収 (蓄積) 効率を上げたり、消費するエネルギーを減らしたりするはたらきをもつようになったもののことである²⁴⁾。いくつかの節約遺伝子が知られているが、代表的なものに「β3 アドレナリン受容体遺伝子」というものがある²⁴⁾。β3 アドレナリン受容体は、白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の両方にそなわっている。交感神経の末端から分泌される「ノルアドレナリン」というホルモンを受けとるための受容体である²⁴⁻²⁵⁾。β3 アドレナリン受容体にノルアドレナリンが結合すると、白色脂肪細胞では、中性脂肪が分解されて遊離脂肪酸となり、血管を通じて褐色脂肪細胞へと移動する。一方、褐色脂肪細胞では、遊離脂肪酸を燃料として熱を発生し、体外へと放出する。従って、このような YOSA (SHINY) の温熱効果とハーブの効果により、新陳代謝のメカニズムにより、本研究の脂肪減少効果かが明らかにされたと考えられる²⁶⁾。

4. 結論

本研究では、漢方座浴により、新陳代謝を促し、温熱効果とハーブに含まれるフラボノイド等がラジカルを補足あるいは細胞内情報伝達を活性化することにより、抗酸化作用が推察された。体重、BMI、ヒップサイズおよびウエスト囲に経時的な減少傾向が認められたことから、内臓脂肪の燃焼により体脂肪率が減少したことが示唆された。尿による漢方座浴後の尿中重金属の濃度は、0 週目に比べて 4 週目、8 週目、12 週目に有意な低下が認められた。特に 12 週目において最も低下が認められた。従って、漢方座浴の温熱効果とハーブは、酸化防止剤として酸化反応に触媒作用を呈する重金属を不活性化させるキレート剤の効果の可能性もあり、解毒剤としても期待される。

参考文献

1. Gu YH, Choi JS, Ann YH.: Whitening mechanism by the extracts of *nardostachys chinensis* batal. *Int. J Beau Ind.* **3** (3): 131-135. 2008.
2. Gu YH, Nakamura T, Yamashita T, Takagi Y, Oshima M.: Anti-glycosuric effect of *Gymnema sylvestre*. *Med Bio.* **148** (6): 38-42. 2004.
3. Gu YH, Yamashita T, Yamamoto H, Matsuo T, Washino T, Song JH and Kang KM.: Plant enzymes decrease prostate cancer cell numbers and increase TNF- α *In Vivo*: A possible role in immunostimulatory activity. *International Journal of Food Science*. Hindawi, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8103480>, 2019, Article ID 8103480, 1-7.
4. Yamashita T, Kato T, Isogai T, Gu Y, Ma N.: Protective effects of taurine on the radiation exposure induced cellular damages in the mouse intestine. *Adv Exp Med Biol.*, **1115**: 443-450, 2019.
5. Ma N, Kato T, Isogai T, Gu Y, Yamashita T.: The potential effects of taurine in mitigation of radiation nephropathy. *Adv Exp Med Biol.*, **1115**: 497-505, 2019.
6. Gu YH, Yamasita T, Inoue T, Song JH and Kang KM.: Cellular and molecular level mechanisms against electrochemical cancer therapy. *Journal of Pathogens*, Hindawi, Article ID 3431674, <https://doi.org/10.1155/2019/3431674>, 2019, 1-11.
7. Gu YH, Yamasita T, Choi DJ, Yamamoto H, Matsuo T, Washino N, Song JH and Kang KM.: The anticancer effect of plant enzymes on mouse breast cancer model. *Adv Medi Plant Res.* **6** (4): 70-77. 2018.
8. Nakamura T, Itokawa Y, Tajima M, Ukawa Y, Cho KH, Choi JS, Ishida T, Gu YH.: Radioprotective effect of *lyophyllum decastes* and the effect on immunological functions in irradiated mice. *J Tradi Chi Med.* **27** (1): 70-75. 2007.
9. Gu YH, Park SR, Hasegawa T, Koike M.: Antihypertensive effect of *lyophyllum decastes* sing in spontaneously hypertensive rats. *Int J Med Mus.* **3** (1): 103-110. 2001.
10. Gu YH, Hasegawa T, Suzuki I, Hayashi I, Ahn KS, Twaraya H.: A study of the radioprotection effect of macro-glucan(β -1-3 glucan) on fetuses of ICR mice. *J Ori Med.* **5** (1): 63-70. 2000.
11. Gu YH, Yamasita T, Kang KM.: Subchronic oral dose toxicity study of *Enterococcus faecalis* 2001(EF 2001) in mice. *Toxi Res.* **34** (1): 55-63. 2018.
12. Yamashita T, Kato T, Tunekawa M, Gu YH, Wang S, Ma N.: Effect of radiation on the expression of taurine transporter in the intestine of mouse. *Adv Exp Med Biol.* **975**: 729-740. 2017.
13. Jin UH, Song KH, Motomura M, Gu YH, Kang YJ, Moon TC, Kim CH.: Caffeic acid phenethyl ester induces mitochondria-mediated apoptosis in human myeloid leukemia U937 cells. *Mol Cell Biochem.* **310** (1-2): 43-48. 2007.
14. Liu J, Edamatsu R, Hamada H, Mori A.: Scavenging effect of Guilingji on free radicals. *Neurosciences*, 1990, 16: 623-630.
15. Kim JH, Park MY, Lee JY, Okuda H, Kim S, Hwang WI.: Antioxidant and antitumor effects of manda. *Biochem Arch.* **14**: 211-219. 1998.
16. Gu YH, Yamashita T, Maenaka T, Itokawa Y, Nakamura T, Choi IS, Tano K, Ryu MS, Hasegawa T, Oshima M.: Anti-tumor immunity and radioprotection effect of *Fuscoporia oblique*.; *Med Bio.* **149** (9): 304-318. 2005.
17. Gu YH, Choi HJ, Yamashita T, Kang KM, Iwasa M, Lee MJ, Lee KH, Kim CH.: Pharmaceutical production of anti-tumor and immune-potentiating *Enterococcus faecalis*-2001 β -glucans: enhanced activity of macrophage and lymphocytes in tumor-implanted mice. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **18**(8): 653-661. 2017.
18. Gu YH, Takebe M.: Immunological enhancement effect and radiation protection effect of *Fuscoporia oblique*. *Med Bio.* **153**: 165-175. 2009.
19. Gu YH, Iwasa M, Iwasa H, Kobayashi K, Itokawa Y, Ishida T.: Radiation protection effect for EF 2001 (*Enterococcus faecalis* 2001). *Med Bio.* **151**: 289-295. 2007.
20. Jin UH, Song KH, Motomura M, Gu YH, Kang YJ, Moon TC, Kim CH.: Caffeic acid phenethyl ester induces mitochondria-mediated apoptosis in human myeloid leukemia U937 cells. *Mol Cell Biochem.* **310** (1-2): 43-48. 2007.
21. Kang YN, Maenaka T, Itokawa Y, Yamashita T, Nakamura T, Oshima M, Hasegawa T, Suzuki I, Tano K, Ishida T, Gu YH: Embryonic death effects of hyperthermia induced by RF (Radiofrequency) waves. *Med Bio.* **150** (3): 97-103. 2006.
22. Gu YH, Fujimiya Y, Itokwa Y, Oshima M, J Choi JS, Miura T, Ishida T.: Tumoricidal effects of beta-glucans: mechanisms include both antioxidant activity plus enhanced systemic and topical immunity. *Nutr Cancer*, **60** (5): 685-691. 2006.
23. Gu YH, Takagi Y, Nakamura T, Hasegawa T, Suzuki I, Oshima M, Tawaraya H, Niwano Y.: Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived β -glucan in Mice. *J Med Food*, **8** (2): 154-158. 2005.
24. Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y.: Immunological enhancement effect in PASSION FRUIT (MARACUJYA). *Med Bio.* **148** (1): 20-25. 2004.
25. Gu YH, Itokawa Y, Maenaka T, Yamashita T, Oshima M, Nakamura T, Young-nam Kang, Takeo Hasegawa, Ikukatsu Suzuki, Insuk Choi, Tano Kaori, Torao Ishida: The blood estradiol-17 β , Testosterone and progesterone of male and female mice change by *lepidium meyenii* walp (MAX-180) and *muira puama*. *Med Bio.* **150** (4): 159-168. 2006.
26. Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y.: The blood estradiol-17 β , Testosterone and progesterone of male and female mice change by *Lepidium meyenii* Walp (MAX-180). *Med Bio.* **148** (1): 14-73. 2004

松かさエキス配合試作品による 単純ヘルペスウイルス感染性の抑制

Inhibition of herpes simplex virus infectivity by the prototype that contains pine cone extract

島田 明 (SHIMADA Akira)¹, 牧浦 啓輔 (MAKIURA Keisuke)², 山本 正次 (YAMAMOTO Masaji)³,
福地 邦彦 (FUKUCHI Kunihiko)⁴, 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)⁵

¹ 株式会社 a-Lamp (新潟県妙高市朝日町 1-10-3 さん来夢あらい 2F)

² 株式会社イムダイン (東京都港区南青山 5-7-17 青山小原ビル 6F)

³ 甲陽ケミカル株式会社 (東京都千代田区神田小川町 1-10-3 保坂ビル)

⁴ 昭和大学大学院保健医療学研究科 (東京都品川区旗の台 1-5-8)

⁵ 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)

Key Words: 松かさエキス配合試作品, 抗 HSV 活性, 感染症の抑制

Abstract

We have established simple and sensitive method to quantitate the virus infectivity. Using this method, we demonstrated for the first time that pine cone extract-containing product inhibited the infectivity of herpes simplex virus.

はじめに

五葉松の松かさ消化器系の癌に有効であることに着目し、その活性成分を同定する着想を得た¹⁾。マウス骨髄性白血病細胞をマクロファージに分化さ

せる活性²⁾、マウス移植癌に対する抗癌作用(延命率)³⁾は、いずれも DEAE セルロースに結合する酸性物質であった。活性物質の本体を、リグニン配糖体と同定した⁴⁾。松かさリグニンの安全性⁵⁾、体内動態(生体利用率)⁶⁾、幅広い抗ウイルススペクトルについて報告した⁷⁻¹²⁾。

今回、松かさエキス配合試作品が、ヘルペスウイルス (herpes simplex virus, HSV) に対する感染性を示すか否かについて検討した。本標品は、松かさエキスのピノソール(丸善製薬)(7.7%)、リグニン配糖体の作用を増強するビタミン C¹³⁾(19.2%)以外に、プロポリス(4.8%)、β-グルカン、硫酸多糖、リシン、グルタミン、カテキン、オリゴ糖、ビフィズス菌、ビタミン C、結晶セルロース、ステアリン酸 Ca などを含む。

また、アミノ酸のリシンが、抗 HSV 活性を示すという報告があるので^{14,15)}、リシン単独の抗 HSV 活性についても検討した。

表 1 松かさエキス配合試作品の組成

原料名	配合率 (%)
プロポリス	4.8
β-グルカン	0.5
硫酸多糖	1.9
L-リシン	9.6
L-グルタミン	11.5
カテキン	1.9
オリゴ糖	11.5
ビフィズス菌(死菌)	1.9
ビタミン C	19.2
ピノソール(丸善製薬)	7.7
結晶セルロース	25.5
ステアリン酸 Ca	3.8
計	100

連絡先：⁵坂上 宏 Tel: 049-279-2758 e-mail: sakagami@dent.meikai.ac.jp

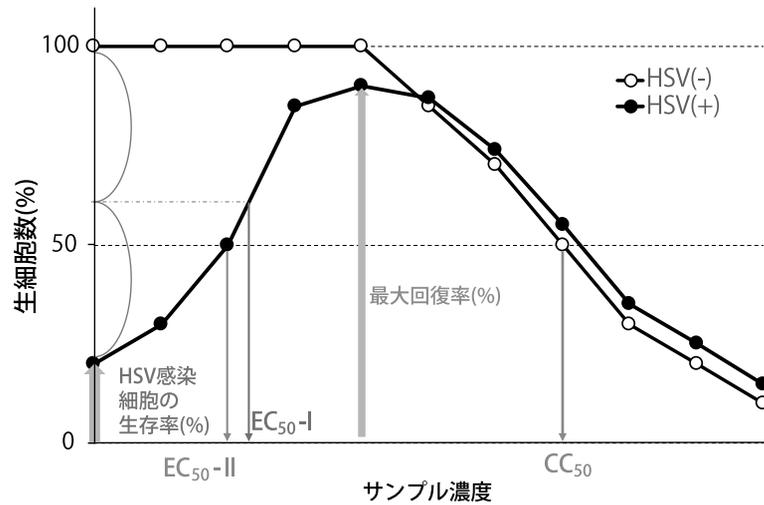


図1 抗 HIV 活性の測定法

1. 抗 HSV 活性の測定法

実験 A : 抗 HSV 活性は、我々が開発した MTT 法により測定した^{16,17)}。アフリカミドリザルの腎臓由来の Vero 細胞 (10,000 個) を 96 穴マイクロタイタープレートに播種し、24 時間後に HSV1 (m.o.i=0.01) で感染した。HSV-1 とサンプル (1.39 % NaHCO₃ で溶解し、60 mg/mL または 100 mg/mL の原液を作成し、MEM+10% fetal calf serum に 最高濃度 3 mg/mL で添加後、0.45 μfilter を通し、段階希釈したもの) を添加 20 分混合してから細胞に添加した。4

日間培養後、PBS で一回洗浄後、MTT 試薬で生細胞数を測定した。非感染細胞に対する 50% 傷害濃度 (CC₅₀) および HSV 感染に対する 50% 有効濃度 (EC₅₀) を、以下の二つの方法を用いて求め (図 1)、抗 HSV 活性の指標である選択係数 (SI) (SI=CC₅₀/EC₅₀) を計算した。方法 1 では、EC₅₀ は、HSV 感染により増殖抑制された点から、無処理の非感染細胞 (100%) にいたるまでの中間点まで復帰させるのに必要な濃度とした。方法 2 では、EC₅₀ は、非感染細胞で設定した CC₅₀ 値まで復帰させるのに必

実験 A : 種々の濃度の試料と HSV を同時に添加し、48 時間培養後、生細胞数を測定

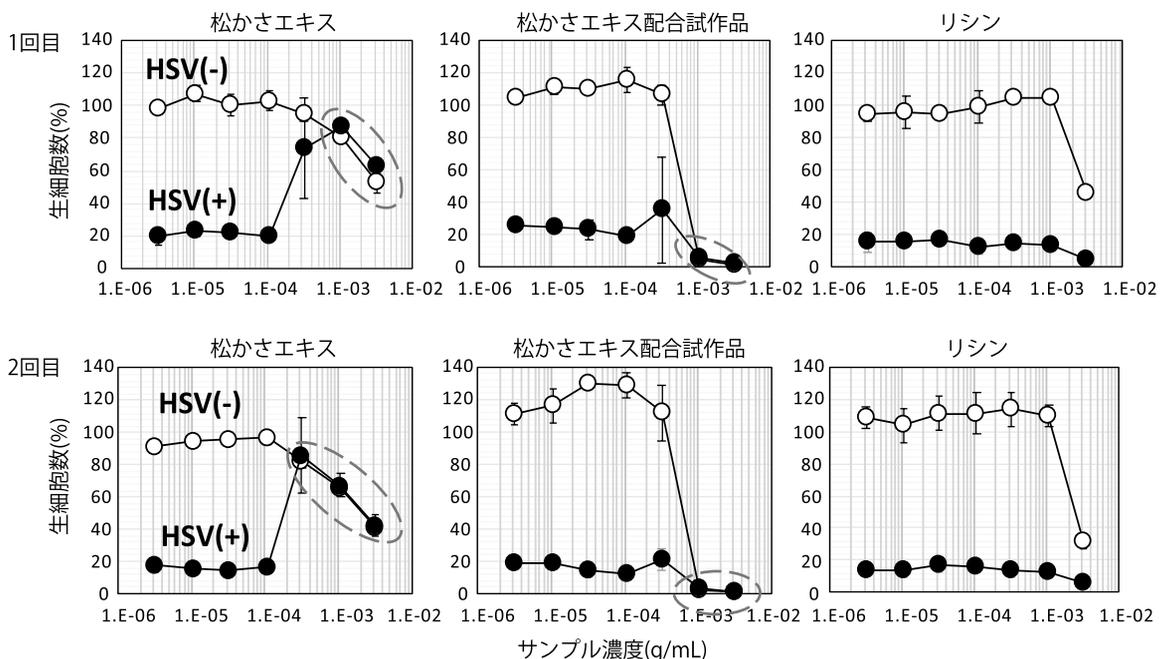


図 2 A 法では、松かさエキスのみ、抗 HSV 活性が検出された。高濃度のサンプルは、感染細胞と非感染細胞を同程度に傷害する (点線で囲った部分)。

実験 B：種々の濃度の試料と HSV を 20 分室温で接触後，その 1/100 量を細胞に添加し，さらに，48 時間培養後，生細胞数を測定

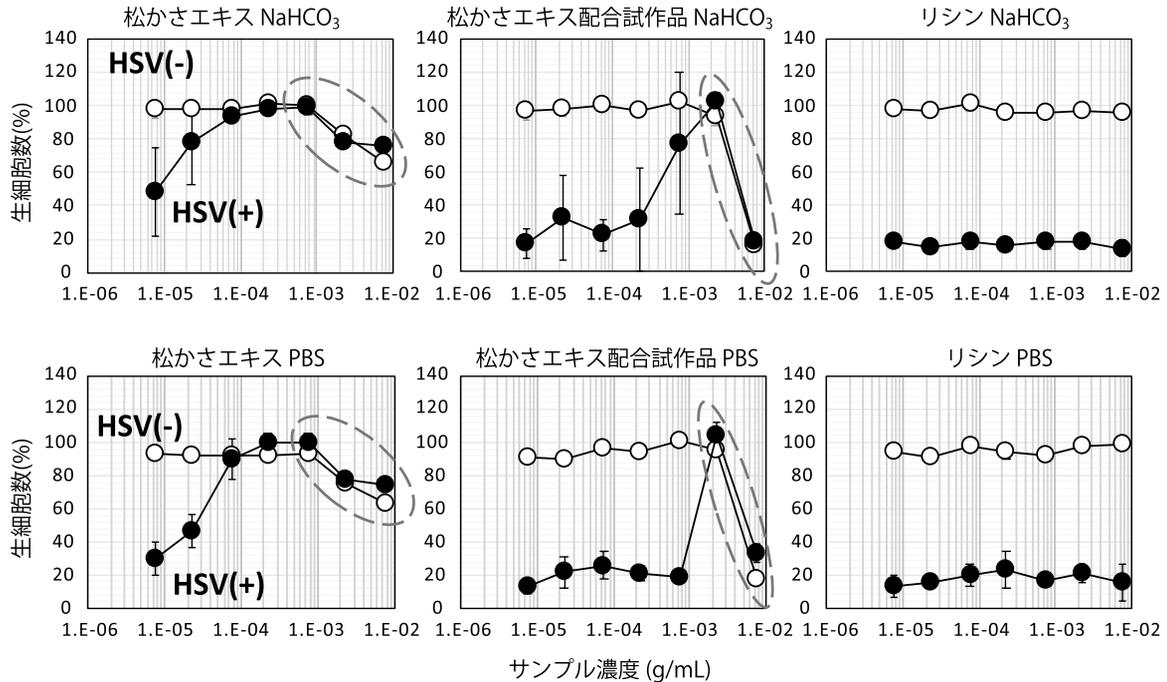


図 3 B 法では，松かさエキス配合試作品にも抗 HSV 活性が検出された。高濃度のサンプルは，感染細胞と非感染細胞を同程度に傷害する（点線で囲った部分）。

表 2 松かさエキス配合試作品の抗 HSV 活性

測定法	試料	CC ₅₀ (g/mL)	EC _{50-I} (g/mL)	EC _{50-II} (g/mL)	Selective index (SI)		
					SI-I	SI-II	Max recovery
A 2 回目	松かさエキス	3x10 ⁻³	2.3x10 ⁻⁴	1.8x10 ⁻⁴	13	16.7	87%
	松かさエキス 配合試作品	5.7x10 ⁻⁴	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	リシン	2.7x10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
A 2 回目	松かさエキス	2.0x10 ⁻³	1.9x10 ⁻⁴	1.7x10 ⁻⁴	13.1	14.7	85.60%
	松かさエキス 配合試作品	5.9x10 ⁻⁴	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	リシン	2.7x10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
B	松かさエキス NaHCO ₃	>1x10 ⁻¹ (final)	1.1x10 ⁻⁴	8.1x10 ⁻⁵	>909.1	>1234.6	99%
	松かさエキス 配合試作品 NaHCO ₃	5x10 ⁻² (final)	4.4x10 ⁻³	3.6x10 ⁻³	11.4	13.9	103%
	リシン NaHCO ₃	>1x10 ⁻¹ (final)	>1x10 ⁻¹	>1x10 ⁻¹	>>1	>>1	(-)
	松かさエキス PBS	>1x10 ⁻¹ (final)	3.1x10 ⁻⁴	2.5x10 ⁻⁴	>322.6	>400	100%
	松かさエキス 配合試作品 PBS	6.4x10 ⁻² (final)	1.2x10 ⁻²	1.1x10 ⁻²	5.3	5.8	105%
	リシン PBS	>1x10 ⁻¹ (final)	>1x10 ⁻¹	>1x10 ⁻¹	>>1	>>1	(-)

要な濃度とした。実験結果を、**図 2** に示す。

実験 B：ウイルス感染力の低下を測定できる系を構築した。サンプルを 1.39% NaHCO₃ またはリン酸緩衝液 (PBS) で溶解し 100 mg/mL の原液を作り、激しく混和後、一晚 4°C で静置した。不溶物を除去後、上清を 0.45 μ filter を通し、NaHCO₃ または PBS で希釈し、直接 HSV-1 (100,000 TCID) と混合した。約 1 時間静置後、MEM+10%FCS に入れて、Vero 細胞へ添加した。実験結果を **図 3** に示す。

2. 実験結果

実験 A：通常のサンプル濃度で HSV と混合した 2 回の実験は、再現性のある結果を与えた。松かさエキスは、予想通り、高い抗 HSV 活性を示し (SI=13.0, 13.1)、非感染細胞の 87% まで生存率を回復させた (**表 2**)。細胞毒性濃度では、ウイルス感染細胞、非感染細胞いずれも、似たような生細胞数の減少カーブを示した (点線で囲んだ部分)。これに対して、松かさエキス配合試作品やリシンを添加しても、生細胞数の復帰は見られず、抗 HSV 活性は、検出されなかった (SI=<1) (**表 2**)。この原因の一つとして、サンプルの細胞傷害活性により、本来備わっている抗 HSV 活性が検出できなかったものと考えた。

実験 B：そこで、約 100 倍のサンプル濃度で、100 倍濃度のウイルスを短時間処理し、100 倍に希釈し

て、短期間におけるウイルス感染性の喪失を測定する実験系を構築した (**図 3**)。この系を用いると、松かさエキスの抗 HSV 活性は、二桁増加した。また、サンプルを NaHCO₃ で溶かした方が (SI=>909.1, >1234.6)、PBS で溶かすより (SI=>322.6, >400)、溶解性が増すためか、強い抗 HSV 活性を与えた (**表 2**)。松かさエキス配合試作品も、若干の抗 HSV 活性が検出された (SI=11.4, 13.9)。PBS に溶かすと若干活性が低下した (SI=5.3, 5.8)。いずれの場合も細胞生存率は、100% 近くまで復帰した。細胞毒性濃度では、ウイルス感染、非感染細胞いずれも、ほぼ同じライン上で生細胞数が減少していった (点線で囲んだ部分)。これに対して、リシンは、抗 HSV 活性を示さなかった (SI=<1)。その原因として、培地中にリシンが 146 μg/mL 含まれているため、新たにリシンを添加してもその効果が現れなかった可能性が考えられる。リシンを除いた培地を使用すれば、この可能性の真偽が明らかになるであろう。

おわりに

我々は、今回初めて、ウイルスの感染性を感度よく測定できる系を確立した。この系を用いることにより、松かさエキス配合試作品が単純ヘルペスウイルスの感染性を減少させることがはじめて明らかになった。

参考文献

1. 坂上宏：松かさリグニンの薬理作用, *New Food Industry* **46** (9): 43-53, 2004.
2. Sakagami H, Takeda K, Makino Y and Konno K: Partial purification of novel differentiation-inducing substance(s) from hot water extract of Japanese pine cone. *Jpn J Cancer Res (Gann)* **77**: 59-64, 1986.
3. Sakagami H, Ikeda M, Unten S, Takeda K, Murayama J, Hamada A, Kimura K, Komatsu N and Konno K: Antitumor activity of polysaccharide fractions from pine cone extract of *Pinus parviflora* Sieb. et Zucc. *Anticancer Res* **7**: 1153-1160, 1987.
4. Sakagami H, Oh-hara T, Kaiya T, Kawazoe Y, Nonoyama M and Konno K: Molecular species of the antitumor and antiviral fraction from pine cone extract. *Anticancer Res* **9**: 1593-1598, 1989.
5. 坂上宏：松かさリグニンの安全性, *New Food Industry* **47** (3): 55-62, 2005
6. Sakagami H, Asano K, Yoshida T and Kawazoe Y: Organ distribution and toxicity of lignin. *In vivo* **13**: 41-44, 1999.
7. Fukuchi K, Sakagami H, Ikeda M, Kawazoe Y, Oh-hara T, Konno K, Ichikawa S, Hata N, Kondo H and Nonoyama M: Inhibition of herpes simplex virus infection by pine cone antitumor substances. *Anticancer Res* **9**: 313-318, 1989.
8. Nagata K, Sakagami H, Harada H, Nonoyama M, Ishihara A and Konno K: Inhibition of influenza virus infection by pine cone antitumor substances. *Antiviral Res* **13**: 11-22, 1990
9. Lai PK, Donovan J, Takayama H, Sakagami H, Tanaka A, Konno K and Nonoyama M: Modification of human immunodeficiency viral replication by pine cone extracts. *AIDS Res Human Retroviruses* **6**: 205-217, 1990.
10. Nakashima H, Murakami T, Yamamoto N, Naoe T, Kawazoe Y, Konno K and Sakagami H: Lignified materials as medicinal resources. V. Anti-HIV (human immunodeficiency virus) activity of some synthetic lignins. *Chem Pharm Bull* **40**: 2102-2105, 1992.
11. Sakagami H, Kushida T, Oizumi T, Nakashima H and Makino T: Distribution of lignin carbohydrate complex in plant kingdom and its functionality as alternative medicine. *Pharmacology & Therapeutics* **128**: 91-105, 2010.
12. Sakagami H, Sheng H, Yasui T, Fukuchi K, Oizumi T, Ohno H, Yamamoto M, Fukuda T, Kotohda K, Yoshida H, Kanamoto T, Terakubo S and Nakashima H: Chapter 18. Therapeutic potential of solubilized nanolignin against oral diseases. In *Nanostructures for Oral Medicine*, ed., Grumezescu, Elsevier, ISBN: 978-0-323-47720-8; PII: 978-0-323-47720-8.00019-5, pp545-576, 2017 April 11.
13. Satoh K, Ida Y, Ishihara M and Sakagami H: Interaction between sodium ascorbate and polyphenols. *Anticancer Res* **19**: 4177-4186, 1999.
14. Thein DJ and Hurt WC. Lysine as a prophylactic agent in the treatment of recurrent herpes simplex labialis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **58** (6): 659-666, 1984.
15. Griffith RS, Walsh DE, Myrmet KH, Thompson RW and Behforooz A. Success of L-lysine therapy in frequently recurrent herpes simplex infection. Treatment and prophylaxis. *Dermatologica* **175** (4): 183-190, 1987.
16. Fukuchi K, Okudaira N, Adachi K, Odai-Ide R, Watanabe S, Ohno H, Yamamoto M, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Uesawa Y, Kagaya H and Sakagami H: Antiviral and antitumor activity of licorice root extracts. *In vivo* **30** (6): 777-785, 2016.
17. 福地邦彦, 坂上宏, 安井利一, 金本大成, 寺久保繁美, 中島秀喜, 勝呂まどか, 名取威徳, 大泉浩史, 大泉高明: ササヘルスの卓越した抗ウイルス活性, *New Food Industry* **58** (12): 23-32, 2016

紹興酒の熟成に伴うアミノ酸代謝物の組成変化

Changes in the concentrations of amino acid metabolites during the maturation period of Shaoxing sake

鈴木 龍一郎 (SUZUKI Ryuichiro)¹, 佐野 愛子 (SANO Aiko)¹, 粕谷 優貴 (KASUYA Yuki)¹,
白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)¹, 坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)², 宮田 順次 (MIYATA Junji)³

¹ 城西大学薬学部 (〒 350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

² 明海大学歯科医学総合研究所 (〒 350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

³ 株式会社南国酒家 (〒 150-0001 東京都渋谷区神宮前 6-35-3 コープオリンピア 602)

Key Words: 紹興酒, 成分分析, 熟成期間, アミノ酸

Abstract

During the maturation period of Shaoxing sake, concentrations of glycine, *o*-phosphoserine, γ -aminobutyric acid (GABA) and ornithine were increased, while those of *o*-phosphoethanolamine, monoethanolamine, taurine, glutamic acid and 2-aminobutyric acid declined and those of aromatic amino acids (phenylalanine, tyrosine) were nearly constant. These conflicting action of GABA/ glycine and glutamic acid may explain the relaxing effect of Shaoxing sake.

はじめに

2019年8月23日、南国酒家が主宰する「紹興酒の夕べ」に参加した。甕出し紹興酒と南国酒家の料理、そして、浙江塔牌（とうはい）紹興酒有限公司 科研センター長・高級エンジニアの単之初先生のミニ講習などのイベントを楽しんだ。

1. 紹興酒とは

中国酒には、黄酒（ホアンジウ：醸造酒）、白酒（バイジウ：蒸留酒）、薬酒（ヤオジウ：薬味酒）、啤酒（ピージウ：ビール）、果酒（グウォンジウ：葡萄酒、リンゴ酒など）そして外来酒（ワイライジウ：ブランデー、ウイスキーなど）の6種がある。黄酒の中で、長期熟成させたものを老酒（ラオジウ）という。浙江省の紹興市は、かつて会稽^{かいけい}と呼ばれ、古くから

水郷地帯であり酒どころであった。紹興市で造られる老酒を紹興酒という。紹興では、女の子が生まれると、父親は紹興酒を作り、花模様を飾った甕に詰めて、地中に埋め熟成させた。女の子が成長して結婚する時に、甕^{かめ}を開け祝酒が振舞われた。

紹興酒の本来のおいしさを楽しむには、ストレートで飲むのが良い。レモン、オレンジ、グレープフルーツなどの柑橘類との相性が良い。梅酒やあんず酒を加えると、ほのかな甘みとさわやかな酸味で飲みやすい。

2. 紹興酒「塔牌（とうはい）」の製造工程

紹興酒の原料は、もち米である。精米したもち米を約10～15日間、水に浸漬する。蒸煮後、麦麴を入れて仕込み、約90日間発酵させる。前発酵は、

連絡先：

鈴木龍一郎 Tel: 049-271-8089 e-mail: ryu_suzu@josai.ac.jp

坂上 宏 Tel: 049-279-2758 e-mail: sakagami@dent.meikai.ac.jp

宮田 順次 Tel: 03-5485-7588 e-mail: j-miyata@nangokusyuka.co.jp



写真1 「紹興酒の夕べ」に参加して

約4日間の活発な発酵であり、後発酵は、約86日の屋外で一切造り手が介入しない自然発酵である。^{あつさく}圧搾して酒と粕を分けて酒が出来上がる。できた新鮮な酒を洗浄・滅菌済の貯蔵用の大きなカメに詰め、口を封じて石膏で固める。風通しのよい貯蔵庫で熟成させる。熟成期間は、最低3年、10年以上の場合もある。熟成により、芳香成分が生成し、まろやかな味わいと高い香りが生まれる。

今回の「紹興酒の夕べ」では、以下の紹興酒を堪能した。

- 塔牌紹興酒 麗美陳5年：食前酒，アルコール度数14%におさえ飲みやすく，軽やか。
- 塔牌紹興酒 陳5年 9L甕：伝統的な手造りで5年間貯蔵・熟成した高品質紹興酒。バランスの良い味わいと豊かなコク。
- 塔牌紹興酒 特選陳年8年：良質のもち米と麦麴を用いて甕で仕込み，8年間じっくり貯蔵。熟成にともなう甘い香りに満ち，洗練された滑らかな味わい。
- 塔牌紹興酒 純10年瑠璃彩磁：10年以上の陳年原酒のみを使用。高いエステル香はフローラルで熟成感ある漂いを感じさせ，丸みのある上品な味わい。
- 塔牌紹興酒 陳15年：繊細にして軽やか，上品

にして芳醇で，なめらかな深み。まさに長期貯蔵ならではの優雅で気品に満ちた至高の逸品である。

3. 熟成に伴うアミノ酸組成の変化

(1) サンプル

今回の研究には，下記の8種の紹興酒を使用した。
1：陳5年，2：麗美陳5年，3：特選陳羊陳8年，4：陳10年，5：純10年瑠璃彩磁，6：陳15年，7：塔碑2009年，8：古越^{こえつりゅうざん}龍山。

(2) アミノ酸分析

全てのサンプルは，15 mLを秤取り，完全に溶媒を留去したのち，15 mLの希釈液（アミノ酸分析計で使用する移動相）に再溶解し，それを10倍に希釈したものを分析した。

アミノ酸分析には，富士フィルム和光純薬株式会社製のニンヒドリン試薬セット，全自動アミノ酸分析機専用試薬・生体アミノ酸分析用 [クエン酸リチウム緩衝液5種 [P-21 (pH 2.98), P-12 (pH 3.28), P-13 (pH 3.46), P-14 (pH 2.83), P-15 (pH 3.65)], 水酸化リチウム水溶液 (P-19) を用いた。分析装置および分析条件を次に示す。

- 装置：全自動アミノ酸分析装置「JLC-500/V」(日

表1 熟成期間中のアミノ酸関連物質の濃度変化 (単位: モル濃度)

	各成分の濃度 (μM)								
	陳 5 年	麗美陳 5 年	特選陳羊 陳 8 年	陳 10 年	純十年 瑠璃彩磁	陳 15 年	塔碑 2009 年	古越龍山	平均値
アラニン	3757	3732	3878	4423	3527	4433	3554	3996	3912
グリシン	1601	1994	1959	2545	1886	2545	1640	1650	1977
ロイシン	1954	2016	2154	2199	1822	2196	1412	1710	1933
アスパラギン酸	1593	1702	1755	1853	1571	1856	1522	1459	1664
アルギニン	1781	2008	2003	1669	1756	1661	1091	1097	1633
o-ホスホエタノラミン	2042	463	1349	999	1320	1018	2080	1537	1351
セリン	1259	1454	1451	1601	1175	1556	1085	1074	1332
β-アラニン	1824	805	967	573	1080	589	2007	1859	1213
モノエタノラミン	1758	833	953	607	1293	593	2401	1090	1191
フェニルアラニン	1109	1240	1263	1297	1043	1306	832	1150	1155
チロシン	1125	1185	1271	1183	1127	1178	984	984	1130
タウリン	1544	438	820	529	974	513	1857	1672	1043
イソロイシン	850	880	956	1000	773	1007	565	723	844
リジン	810	975	1019	916	642	978	540	818	837
アスパラギン	876	841	785	596	622	546	1071	693	754
o-ホスホセリン	603	408	529	845	1342	841	857	513	742
グルタミン酸	1035	651	736	417	483	390	807	1216	717
トレオニン	658	856	852	874	586	860	395	599	710
γ-アミノ酪酸 (GABA)	602	779	699	817	829	808	478	398	676
β-アミノ酪酸 (BABA)	746	433	517	479	753	474	723	786	614
オルニチン	267	382	396	620	268	627	195	657	426
2-アミノ酪酸 (2-AABA)	225	104	115	191	26	147	281	106	149
シトルリン	70	68	69	70	35	67	72	55	63
合計	28089	24246	26495	26303	24932	26188	26449	25841	26068

本電子株式会社)

- カラム: 高分離カラム LCR-6 (4.0×120 mm)
- プレカラム: LCR-7 充填 (4.0×75 mm)
- 試料注入量: 50 μL
- カラム温度: 34°C (22.8 min) → 59°C (39.5 min)
→ 34°C (19.5 min) → 45°C (49.0 min) → 72°C (61.0 min)
- 送液組成: Time (time) 緩衝液

00:00 – 22:40	P-21
22:41 – 53:10	P-12
53:11 – 75:19	P-13
75:20 – 87:20	P-14
87:21 – 110:00	P-15
- 流速: 0.43 mL/min

(3) 実験結果

8 サンプルの平均値を先ず求めた。紹興酒中 1 mL 中に含まれている量をモル濃度で表記すると、全体で、約 26 mM のアミノ酸関連物質が含まれることが分かった (表 1)。多量に含まれたものは、アラニン (3912 μM) であり、以下、グリシン (1977)、ロイシン (1933)、アスパラギン酸 (1644)、アルギニン (1633)、o-ホスホエタノラミン (1351)、セリン (1332)、β-アラニン (1213)、モノエタノラミン (1191)、フェニルアラニン (1155)、チロシン (1130)、タウリン (1043)、イソロイシン (844)、リジン (837)、アスパラギン (754)、o-ホスホセリン (742)、グルタミン酸 (717)、スレオニン (710)、γ-アミノ酪酸 (676)、β-アミノ酪酸 (614)、オルニチン (426)、2-アミノ酪酸 (149)、シトルリン (63) の順であった (表 1)。

表2 熟成期間中のアミノ酸関連物質の濃度変化 (単位: 重量濃度)

	各成分の濃度 (μg/mL)								平均値
	陳5年	麗美陳5年	特選陳羊陳8年	陳10年	純十年瑠璃彩磁	陳15年	塔碑2009年	古越龍山	
アラニン	335	332	345	394	314	395	317	356	349
アルギニン	310	350	349	291	306	289	190	191	285
ロイシン	256	264	282	288	239	288	185	224	254
アスパラギン酸	212	227	234	247	209	247	203	194	221
チロシン	204	215	230	214	204	214	178	178	205
フェニルアラニン	183	205	209	214	172	216	138	190	191
o-ホスホエタノラミン	288	65	190	141	186	144	293	217	191
グリシン	120	150	147	191	142	191	123	124	148
セリン	132	153	153	168	123	164	114	113	140
o-ホスホセリン	112	76	98	156	248	156	159	95	137
タウリン	193	55	103	66	122	64	232	209	131
リシン	118	143	149	134	94	143	79	120	122
イソロイシン	111	115	125	131	101	132	74	95	111
β-アラニン	162	72	86	51	96	53	179	166	108
グルタミン酸	152	96	108	61	71	57	119	179	105
アスパラギン	116	111	104	79	82	72	141	92	100
トレオニン	78	102	102	104	70	102	47	71	85
モノエタノラミン	107	51	58	37	79	36	147	67	73
γ-アミノ酪酸 (GABA)	62	80	72	84	86	83	49	41	70
β-アミノ酪酸 (BABA)	77	45	53	49	78	49	75	81	63
オルニチン	35	51	52	82	35	83	26	87	56
2-アミノ酪酸 (2-AABA)	23	11	12	20	3	15	29	11	15
シトルリン	12	12	12	12	6	12	13	10	11
合計	3402	2978	3274	3216	3067	3204	3109	3109	3170

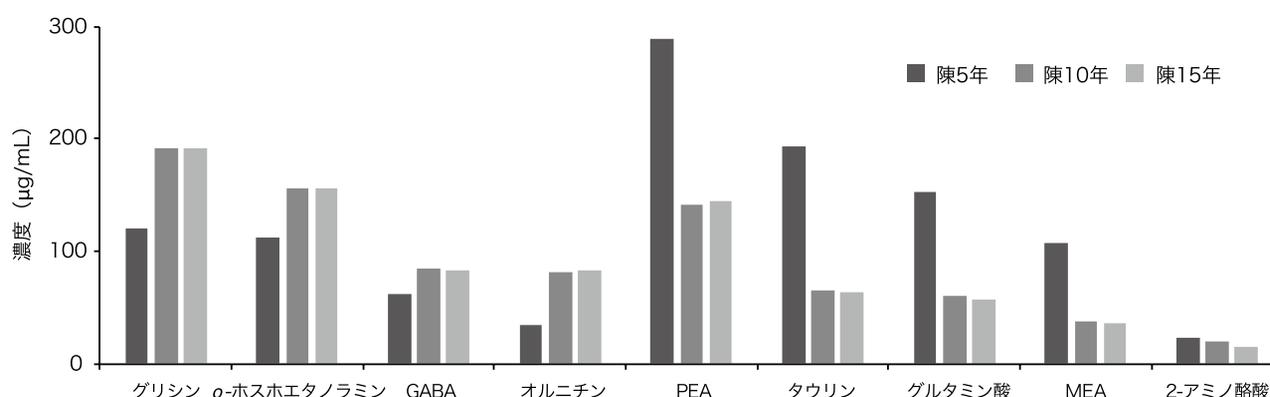


図1 熟成期間中に変動するアミノ酸

紹興酒中 1 mL 中の量を, 重量単位で表記すると, 全アミノ酸関連化合物は, 3170 μg/mL (すなわち, 3.17 mg/mL) であった (表2)。やはり, アラニンが最大値を示し (349 μg/mL), 以下, アルギニン (285), ロイシン (254), アスパラギン酸 (221),

チロシン (205), フェニルアラニン (191), o-ホスホエタノラミン (191), グリシン (148), セリン (140), o-ホスホセリン (137), タウリン (131), リシン (122), イソロイシン (111), β-アラニン (108), グルタミン酸 (105), アスパラギン (100),

トレオニン (85), モノエタノラミン (73), γ -アミノ酪酸 (70), β -アミノ酪酸 (63), オルニチン (56), 2-アミノ酪酸 (15), シトルリン (11) の順であった (表 2)。

陳 5 年, 陳 10 年, 陳 15 年と熟成期間が延びると, グリシン, α -ホスホセリン, γ -アミノ酪酸 (GABA), オルニチンが上昇した (赤色で示した), α -ホスホエタノラミン, モノエタノラミン, タウリン, グルタミン酸, 2-アミノ酪酸は減少した (青色で示した) (表 1, 表 2, 図 1)。GABA とグリシンは, 抑制性アミノ酸であり, リラックス感を与える原因になる可能性がある。グルタミン酸は, 興奮性アミノ酸であり, GABA 合成の前駆物質である。GABA / グリシンとグルタミン酸が相反することは大変興味深い。神経分化に伴い, タウリンが低

下することを我々は見出している¹⁾。芳香族アミノ酸 (フェニルアラニン, チロシン) の含量が変動しなかったのは, 意外であった。

紹興酒の成分分析の論文は少ない。F (2) 選択的 TOCSY (全相関分光法) スペクトルと主成分分析を組み合わせることにより, 日本酒, 中国紹興酒, 韓国マッコリに含まれる原材料, すなわち麴の種類 (米麴, 小麦麴) を区別できることが報告されている²⁾。この方法は, 品質管理や食品認証の新しい「フィンガープリント」として役立つ可能性がある。本研究により, 陳 10 年以上になると, 紹興酒の成分が一定値に近づくことが初めて明らかになった。このことは, 10 年の熟成期間が最適であることを示唆する。紹興酒成分の含量と薬理活性との相関は, 今後の重要な研究テーマである

参考文献

1. Sano A, Shi H, Suzuki R, Shirataki Y, Sakagami H.: Change in amino acid pools during neuronal differentiation of PC12 cells. *In Vivo*. **32** (6): 1403-1408, 2018. doi: 10.21873/in vivo.11392.
2. Koda M, Furihata K, Wei F, Miyakawa T, Tanokura M.: NMR-based metabolic profiling of rice wines by F(2)-selective total correlation spectra. *J Agric Food Chem*. **60** (19): 4818-4825, 2012. doi: 10.1021/jf3008647.

白石カルシウムの炭酸カルシウム

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

新解説

グルテンフリー製品への sorghum (モロコシ) と maize (トウモロコシ) 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 sorghum (モロコシ) maize (トウモロコシ)

本論文「新解説 グルテンフリー製品への sorghum (モロコシ) と maize (トウモロコシ) 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 5 章 Sorghum and maize by Schober and Bean の一部を翻訳紹介するものである。

イントロダクション

Sorghum (モロコシ) (*Sorghum bicolor* L. Moench) と maize (メイズ) (*Zea mays*) は Gramineae 類 (family) 中の密接な関連ある Panicoideae 亜科 (subfamily) のメンバーである。Sorghum は中央アフリカが原産地であるが、その定着にはいろいろな仮説があり紀元前 4500—紀元前 1000 の間といわれ、その後アジアやインドに広がっていった (Kimber, 2000)。Sorghum は世界中で栽培され、大部分 (~55%) はアジア、アフリカである。米国は世界生産の約 30% であり、残りの主生産国は南アフリカである (Smith 2000; Rooney and Serna – Saldivar, 2000)。Sorghum はわずかだがヨーロッパでも作られる。

Sorghum は世界中の多くの乾燥地帯の重要な主食食品であり、乾燥に耐えるものであり；しばしば他の穀物が生産できないところでも育つ。

Maize は世界中で育つ主力穀物種であり全生産域で小麦に次ぐ 2 番目にランクされるものでさらに全生産量では米に次いで 2 番目のものである (Farnham *et al.*, 2003)。米国は世界最大の maize 生産国で、北米は全世界生産の ~50% にあたり、続いてブラジル、中国である (Johnson, 2000)。Maize は北アメリカ原産で紀元前 5000 の早い段階で今日のメキシコで栽培され、そこから次第にヨーロッ

パに広がった (Johnson, 2000; Farnham *et al.*, 2003)。

粒の物理的性質

Sorghum 粒は典型的にまるいと考えられるが、殆どは少なくとも一面に平らな表面を有している (Reichert *et al.*, 1988)。Sorghum の遺伝的な多様性のため、粒のサイズと形は広範囲にいろいろであり、sorghum 1000 粒重は 30-80g といろいろである (Rooney and Serna – Saldivar, 2000)。市販の sorghum 雑種は平均粒重量は 25-35mg で長さ約 4mm 幅 2mm 厚さ 2.5mm である (Rooney and Serna-Saldivar, 2000)。組織学的には sorghum 粒は、果皮、内胚乳、胚からなる。Sorghum はユニークで、果皮にデンプン粒が存在する唯一の穀粒である。Sorghum 内胚乳の外側の端は脂質、酵素、タンパク体を含むアリーロン層からなる。アリーロン層の下は、外側の角質状(固く、時にガラス様と言われ—Hoseney 1994 参照、これらの言葉を述べている)内胚乳区分で内部の粉状(ソフト)のコアを囲んでいる (Serna-Saldivar and Rooney, 1995; Rooney and Serna-Saldivar, 2000)。外側の角質状内胚乳は連続タンパク質マトリックスでカバーされたタンパク体でしっかりパックされている (Seckinger and Wolf, 1973)。Sorghum 粒のこの場所のデンプン粒は、タンパク体が粒の側面に圧力を

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会前会長, ³ 神戸女子短期大学

かけたようなくぼみが見られる (Rooney and Serna-Saldivar, 2000)。

それに対するコントラストとして、粒中心部の粉状内胚乳は不連続なタンパク質マトリックスと球状デンプン粒とで緩くパックされている (Secking and Wolf, 1973; Rooney and Serna-Saldivar, 2000)。粉状に対する角質状内胚乳の相対的比率は sorghum 中大きく異なり、sorghum 中の全体的な粒の堅さはしばしば穀粒の角質硝子体 % に十分関係していると報告されている (Hallgren and Murty, 1983)。Sorghum 外観は白、黄から赤と、非常にいろいろである。

Sorghum の内胚乳色は黄色から白色で、薄い果皮をつけた胚芽プラズマ中の粒の概観に影響する。タンニン、あるいはプロアントシアニジンは、着色した胚乳を持つ sorghum の種類に見られるポリフェノール成分である。着色性の胚乳の存在とこのタンニンは遺伝的コントロール下にあり、B₁/B₂ 遺伝子を持つ sorghum のみ着色した胚乳を持つ (Waniska, 2000)。一般の通説として全ての sorghum 種類はタンニンを含み、時に非タンニンフェノール物質がタンニンとして存在している。他の一般的通説としてタンニンの存在が sorghum 中粒の色に関係する；着色した胚乳をもつ sorghum 種は白っぽい皮色を持つ (Waniska, 2000)。

Maize 粒は穀物粒中の最大のサイズをもち、平均して粒重量は 250-300mg でユニークな扁平構造をしている (Johnson, 2000; Watson, 2003)。Sorghum のように、maize 粒大部分の成分は外部皮層、内胚乳、胚である。Maize 内胚乳は粒の大部分の区分で、sorghum の様に角質状 (固い) と粉状 (柔い) 内胚乳からなる。Maize は品質が非常に多く、5 種の基本タイプに分けられ、そこには dent (へこみ)、flint (石状)、flour (粉状)、sweet (甘い)、pop (はぜ) がある (Watson, 2003)。各粒のタイプ内には色がいっしょで、黄色、白、青がある (Johnson, 2000; Watson, 2003)。いろいろな maize 粒タイプ間の大部分の区分要因は、内胚乳成分の違いである。Dent 粒は粉っぽい内胚乳中心と端部と後部の固い内胚乳をもつ。柔らかい内胚乳中心部は乾燥で破壊され、粒の端部がへこみを作る。Yellow dent corn は、米国で最も広く栽培される maize で (Johnson 2000; Watson 2003)、広く用いられそこには燃料エタノール生産として用いられる応用面も含み、さらに分離

したデンプン、動物飼料、ヒト用食品を含む (Watson, 2003)。白色 dent 粒はしかしながら乾燥製粉に好まれ、コーントルチラ産業は明るい色の加工食品としてこの粒から作られた (Johnson, 2000)。flint タイプ maize 粒は sorghum に似ており、内胚乳の固い層は中心の粉状内胚乳をとり囲んでいる。Popcorn 粒は flint 粒に似ていて、それは固い外側内胚乳層を持つが普通 flint 粒より小さい。Flour 粒は粒を通してソフトな内胚乳で砕きやすい、しかし全体的には粒の柔らかさはカビ抵抗およびハンドリング属性に貧弱な結果をもたらす。Sweetcorn は典型的に野菜として消費され、粒中で糖のデンプンへの変換からくるため、テクスチャ同様に粒の甘味が増加する (Johnson 2000; Watson 2003)。

粒の固さあるいは内胚乳テクスチャ (粒の構造) は、重要な物理的粒品質属性であり、穀物粒の加工的に重要な役割を果たし、パンやスナック食品の様な製品の穀物粒ベースの加工食品の最終的品質に十分な役割を演じている (Cagampang and Kirleis, 1984; Bettge and Morris 2000)。穀粒の固さはまた、カビに対する植物防御を行い、あるいは昆虫の攻撃からの可能性にも防御の十分な役割を果たしている (Chandrashekar and Mazhar, 1999)。そこで粒の固さは、穀粒に於ける重要な経済的、最終利用品質の特性である。即ち、それに応じてかなりの研究が進められ穀物粒の固さの生化学的な基礎の理解がすすんだ。ある粒、例えば小麦の用な粒で進められたが、maize や sorghum では粒をコントロールする正確な生化学的なメカニズムは十分に理解されてない。現在の生化学的な粒の力の maize, sorghum での理解の基本については最近レビューされ (Chandrashekar and Mazhar, 1999)、そしてこの章で最も詳しく後半で述べる。

これまで述べたように、粒の固さは穀物粒の加工において重要な役割を演じている。これは特に製粉的に重要であり、そこでは粒の固さは製粉の回収と製粉したものの品種に影響する (Cagampang and Kirleis, 1984; Chandrashekar and Mazhar, 1999; Bettge and Morris, 2000)。粒の固さと乾物製粉の性質の間の関係は十分に公表されている (Paulsen and Hill, 1985; Peplinski *et al.*, 1992; Pan *et al.*, 1996; Shandera *et al.*, 1997)。固い maize あるいは sorghum の乾燥製粉は、大きな固い内胚乳粒子 (グリストという) を製

粉の流れの初期に作る。粒の中心部のよりソフトな内胚乳は、他製品の製粉の流れを作る。

乾燥製粉に加え、maize, sorghum 粒両方の物理的特徴はそれらのトリテラやスナックの製造中の“ニスタマリゼーション”(アルカリ処理)に影響する(Sahai *et al.*, 2000)。Maize 粒の固さは、アルカリクッキング中(Pflugfelder *et al.*, 1998)、固形量と成分の両方に関係があり、またニスタマリゼーションのプロセス後の最終製品の水分含量とテクスチュアに関係する(Serna-Saldivar *et al.*, 1993; Almeida-Dominguez *et al.*, 1997)。固さに加えて他の穀粒の性質と要因もmaizeのアルカリ処理品質に影響することが判っているがそこには;粒のグレード、かさ密度、浮く部分(percent floaters)、砕けた部分量、砕けた粒がふくまれる(Sahai *et al.*, 2000)。幾つかの異なった試験でmaizeのかたさを調べる。乾燥製粉パフォーマンスを予測するのに用いられる。そこには接線研磨脱穀装置(TADD)、Stenvert ミクロハンマーテスト、Wisconsin 破損テスト、ガスピクノメーター測定の比重、硝酸ナトリウム溶液中に浮く粒%, 重量計, 粒サイズ, 1000粒重計が含まれる。これらのいろいろな硬度計の中で、TADD, Stenvert micro-hammer mill 硬度計, 浮くパーセントはmaizeのひきわり回収量の予測と重要な品質測定値を与える(Shandera *et al.*, 1997)。

これまで述べたように、粒の固さはsorghumのニスタマリゼーションに重要な要因である事もわかった(Almeida-Dominguez *et al.*, 1997)。Sorghumの変動性の為に、外皮(ふすま外皮層の除去)処理の脱色の程度は、最終製品(例えばトリテラ)の色同様調理特性にインパクトを与えるとわかった(Bedolla *et al.*, 1983; Choto *et al.*, 1985)。再び、maizeの様に幾つかの異なったテストがsorghumでも粒のかたさを測定するのに用いられた。Pomeranz, (1986)は、Brabender hardness 試験機, Stenvert micro-ハンマー試験機, 粒子サイズインデックス, 近赤外装置(NIR)でsorghumの固さの測定/固さ予測を測定した。多分最も広く用いられている粒の固さ測定方法は、それと関連してsorghumの製粉パフォーマンスに関してTADD(Rooney and Waniska, 2000)の方法があり、それは粒の外側を研磨剤ですりつぶす方法である。時間ごとの重量損出量は、固さ研磨インデックス(AHI)を計算してはかる事ができる(Oomah

et al., 1981)。シングル粒特徴システム(SKCS)はsorghum中で粒の固さを測定するのに用いられて来た(Pedersen *et al.*, 1996; Bean *et al.*, 2006)。SKCSでは粒はクレスセントとローターの間でつぶす(Osborne and Anderssen, 2003);これはTADDと比較していろいろなタイプの固さ測定できる。

SKCS硬度値とTADD硬度値の間の僅かの相関性は報告されている(Awika *et al.*, 2002; Bean *et al.*, 2006)。Bean *et al.*, (2006)は、多くの異なったsorghum種のSKCS硬度値, AHI, 粒性質を比較し複雑な関係を見出し、多くの粒のファクターがTADDとSKCSによる硬度測定に重要な役割をしていることを見出した。固いものから粉っぽい内胚乳の相対的性質は、sorghumで幅広くいろいろあるが、全体的にはsorghum粒の固さが粒のガラス状%と関連があるとよく報告される(Hallgren and Murty 1983)が、それは硝酸ナトリウム溶液中に浮く粒のパーセンテージの様な簡単な方法で調べる。行いやすいのだがPedersen *et al.*, (1996)によって指摘されたように、ガラス性は物理的固さの測定ではなく、未だに相対的に信頼できる迅速で簡単なsorghum中の固さを予測できる方法である。

化学組成

化学組成を穀物粒の一定のタイプ内で比較する事は難しく、言うまでもなく2種の異なるタイプ穀物間でもそうであり、それは生長時の環境と栽培条件(例えば受粉)の違い、組成を測定する用いた分析方法の違い、組成を述べるための命名法の違い等々のためである。上述の警告の下に、“典型的”なsorghumの組成がこれまで述べ(Serna-Saldivar and Rooney 1995; Rooney and Serna-Saldivar 2000)、さらにmaizeの組成を述べた(Johnson 2000; Watson, 2003)。これらの仕事から明らかなのは、全ての穀物粒同様sorghum, maizeの殆どの組成はタンパク質とデンプンである。そのようなものとして、これら2つの成分のクラスを以下より詳細に述べる。

Sorghum プロラミン

穀物タンパク質の比較研究は時に難しいが、それは抽出方法、用いる分析方法、タンパク質を記述する名称の違うことであろうが、明らかな事はプロラミンは貯蔵タンパク質であり、その第1の機能は植

物の次世代のための窒素源として使われることである。プロラミンは水アルコール（抽出に還元剤を用いようと用いまいと）に可溶で、高レベルのアミノ酸プロリン、グルタミンを含むものである (Belton *et al.*, 2006)。Sorghum では抽出方法を改良した最近の研究から、ケファリンと呼ばれるが、プロラミンは全粒タンパク質の約 70-90% を示す (Hamaker *et al.*, 1995)。ケファリンは、 α -、 β -、 γ - のサブクラスに分けられ、それらは溶解性、構造、アミノ酸組成により分けられる (Shull *et al.*, 1991)。大部分のケファリンは α - サブクラスであり、トータルケファリンの約 65-85% を占め、一方 β -、 γ - サブクラスはプロラミンの約 7-8% と 9-12% それぞれである (Watterson *et al.*, 1993; Hamaker *et al.*, 1995)。さらにこれらプロラミンの 3 つの大部分のサブクラスに加えて、他のマイナーのサブクラス、例えば δ -ケファリンも報告されている (Belton *et al.*, 2006)。ケファリンは sorghum 内胚乳中、第一の球形タンパク体として存在し、 α -ケファリンは主にタンパク体の中心部に存在していて、 β - と γ -ケファリンはタンパク体の外側の端に形成されている。

Sorghum のタンパク体は高度に酵素分解に抵抗性があり、エクストルージョンの様な加工してもなお抵抗性がある。最近 β -、 γ -ケファリンは高度に架橋したシェルとなりより簡単に分解された α -ケファリンを取り囲んでいると考えられている (Hamaker and Bugusu, 2003)。ケファリンは一般に最も疎水的な穀物プロラミンと考えられ、抽出する際、より普通に用いる 70% ethanol とくらべてもっと非極性溶剤の例えば 50% tertiary-butanol を用いる。最近のケファリンの水和の自由エネルギーに関するレポートではこの主張を指示しているようで、sorghum ケファリンは小麦プロラミンよりもっと疎水的であることがわかった (Belton *et al.*, 2006)。

ケファリンと maize プロラミンの水結合能を比較すると、2 つのもの間に大きな違いはしかならなかった (Belton *et al.*, 2006)。

Sorghum の 1 つの重要な特徴的様相はそのタンパク質消化性が調理で低下することで、明らかに調理プロセスでよりタンパク質の架橋が生じるためである (Doudu *et al.*, 2003)。この発見と一致して、Hamaker と Bugusu (2003) はレーザー走査型焦点顕微鏡によって調理は sorghum タンパク質を

伸張し、蜘蛛の巣状 (web-)、シート状構造にすることを観察した。オリゴマーと蜘蛛の巣状タンパク質構造の両方の形成は maize では程度は低いが起こる (Duodu *et al.*, 2003; Hamaker and Bugusu 2003)。興味深いことに、調理したツエインの水分吸収能は調理したケファリンのものより低いことが判った (Belton *et al.*, 2006)。最近高度に消化できる sorghum 変異種の妙な形のタンパク体が見つかったが (Oria *et al.*, 2000) ; これら変異種からの sorghum 粉は食品生産中での機能に影響するであろう。この考えをはっきりするためにはもっと研究が必要である。

Maize プロラミン

全体的に maize のタンパク質は sorghum に類似する。主なるタンパク質クラスは再びプロラミンで、maize の場合ツエインという。Sorghum プロラミンの様にツエインはサブクラスに分けられる (Esen 1987)。事実 sorghum のサブクラスは maize に見られるものに類似するように作成された (Shull *et al.*, 1991)。大部分のツエインは α - ツエインであり、全たんぱく量の ~ 70% で、続いて β - および γ - サブクラスで 5%、~ 20% 各々である。他の微量プロラミンサブクラス例えば δ も報告されている。

ツエインは α -ケファリンのようにタンパク体中に位置していて、 α - ツエインは第 1 にタンパク体の中心部に位置し、 β -、 γ - ツエインは外側の端にある (Lawton and Wilson 2003)。分離したツエインは商業的に利用され、主には食品製品の包装に使うが、歴史的には多く使われてきた (Lawton, 2000)。分離されたツエインは高温で攪拌すると、粘弾性のあるドウを作る事がわかった (Lawton 1992)。もしあればどんな役割か、グルテンフリー食品の発展に役割を演じるだろうか、現在は不明。

タンパク質と粒の固さ

研究から、maize と sorghum の内胚乳タンパク質はこれらの粒の固さに重要な役割を演じることが判った (Wall and Bietz 1987; Wallace *et al.*, 1990; Mazhar and Chandrashekar 1993; Mazhar and Chandrashekar, 1995; Pratt *et al.*, 1995; Donbrink-Kurtman and Biez 1997; Chandrashekar and Mazhar 1999)。Maize, sorghum の内胚乳のかたさにはタ

ンパク質含量とプロラミン成分との関係があった (Chandrashekar and Mazhar, 1999)。Prat *et al.*, (1995) は maize 中の γ -プロラミンレベルと粒の固さの関係を逆相高速液体クロマトグラフィーを用いて示した。対照として Dombink-Kurtzman and Bietz (1997) は、粉っぽい内胚乳がガラス質の内胚乳と比べて γ -ツエインの高いことを報告し、ガラス質内胚乳はソフト内胚乳に存在する α -ツエイン量の2倍ほど含んでいる事を報告した。粒の内部部分にはプロラミンがより低量含まれているが、 α -プロラミンより γ -プロラミンの方が比率的には多く含まれている。

Mazhar and Chandrashekar (1995) は、 α -、 γ -ケファリンの含量と分布が内胚乳のテクスチャの変成に関係があり、 α -ケファリンはタンパク体のサイズに関係があり γ -ケファリンはタンパク体の外側測に架橋する事で固くする事に関係していると考えた。さらにこれらの著者らは、粒の固くなることには大きなタンパク体による強い架橋 (高レベルの γ -ケファリン) のあることが必要 (高レベルの α -ケファリン) と報告した。結論として Chandrashekar and Mazhar (1999) は、プロラミンサブクラスと粒の固さの間の関係を γ -プロラミンはセメントを作り、一方「 α -プロラミンはレンガを作る」と述べた。

Sorghum デンプン

全ての穀粒と同様、デンプンが sorghum, maize 粒の大部分の成分である。重量ベースで sorghum 粒の 50-75% はデンプンである (Rooney and Sepna-Saldivar, 2003)。デンプンは内胚乳に存在 (ガラス質, 粉質両方) し、前述のように粒の皮部にあり、それは sorghum のユニークな様相である (Rooney and Serna-Saldivar, 2003)。デンプン粒は sorghum 中、2-30 μ m 直径で、角質内胚乳で多角形のデンプン粒は、形がよりまるい粉状内胚乳中のデンプン粒より小さい (Serna-Saldivar and Rooney, 1995)。Sorghum デンプンの糊化温度は 71-80 $^{\circ}$ C のばらつきがあると報告され (Sweet *et al.*, 1984)、角質内胚乳からのデンプンはより高い糊化温度で、それは粉質の内胚乳デンプンよりも高い (Cagampang and Kirleis 1985)。角質内胚乳デンプンはより高い粘度をもち、より低いヨーソ結合能であり、それは粉質内胚乳のものより低い (Cagampang and Kirleis, 1985)。正常の粒からのデンプンは 23-30% アミロースを含み、一方ワ

キシ sorghum からのものは 5% 以下のアミロースである。

ワキシ sorghum デンプンは正常デンプンに比べその性質は異なり、水吸収能同様より高い粘度をもつ (Serna-Saldivar and Rooney, 1995)。ワキシ sorghum デンプンの消化性はまた、正常の sorghum デンプンよりも高いと報告された。(Rooney and Pflugfelder, 1986)。

Maize デンプン

Maize デンプンの化学は、食品、および非食品応用面で広く利用され、深く研究されている; 全世界デンプン生産の 80% 以上は maize から来る (Johnson, 2000; Boyer and Shannon, 2003)。Maize デンプンの全含量と成分は sorghum デンプンに似ている。ワキシ maize タイプは sorghum 同様であるが、sorghum と違い高アミロース maize 種も同定されている。Maize でのこれらのタイプには、アミロース含量が 50-80% の範囲である (Johnson, 2000)。Maize デンプン粒はサイズの点で sorghum に似ていて、約 5-30 μ m の直径にまたがる (Johnson, 2000)。この章の範囲外だが、変性デンプンの多くのタイプは maize デンプンから作られ、天然のデンプンとは違ったユニークな特徴のあるものである (Johnson, 2000)。このデンプンの性質は非常にいろいろで、グルテンフリー食品の生産の場面で有用であり、このエリアではもっと研究が必要ではあるが。前述の様に全体的に sorghum, maize デンプンは似ているがしかし sorghum デンプンの水結合能は maize デンプンよりも低い。さらに sorghum デンプンはまた maize デンプンよりも 90 $^{\circ}$ C のより高い糊化デンプンとより低い溶解性が報告され、これはより高いピークと低温粘度も同様に報告された (Abd Allah *et al.*, 1987)。

製粉

乾燥製粉

西側諸国では sorghum は昔から動物飼料として用いられ、たとえば製粉技術は小麦や maize の様な他の穀物に追いついていない。アフリカでは sorghum の多くは手でつぶし、加工される (Murty and Kumar, 1995, Munck, 1995)。Sorghum のハンマー製粉は普通行われるが、もっと洗練されたやり方も

報告されている (Munck 1995)。Hallgren *et al.*, (1992) は或る工夫を報告しているが、そこでは固いのとソフトの内胚乳区分は分離され、異なった目的で用いられている。固い内胚乳区分は再製粉して粉にし、ソフトな内胚乳区分と共に食用に用いるが、しかしこれはデンプン損傷が大きく以下述べる粉の機能性に影響する。ローラー製粉は小麦製粉で用いる装置だが、経済的に好ましい特徴ある実行可能な製品を作らないが、しかし半乾燥ローラーミル法は納得ゆく粉と食品製品を作ることができると報告された (Munck, 1995)。

Maize は sorghum とは違い、西側諸国では非常に乾燥して製粉をする。米国では3つの基本的な乾燥粉砕 maize 食品用粉が作られる；full-fat (全脂

肪), "bolted" (ふるう), tempered-degermed (やき戻し) である (Deunsing *et al.*, 2003)。これらの製品は粉中の区分を得るために用いる加工方法と同様、元々の穀粒が粉中に残った比率でいろいろ分類される。名前が示すように全脂質製品とは殆どの胚油が製品中に集まり、簡単にいたむもの。"bolted" flour とは製粉ストリームでふるい分けして、ある部分を除き、全脂質区分よりも脂肪や繊維の低いもの。tempered 製品とは、初めに水分を maize に加え、粒の構造的部分、特にふすま、胚を好ましいように分離したもの。添加水分量は重要で、maize 粒自体のいろいろな特徴によるが、例えばクラックし損傷する粒の考慮分が含まれる (Duensing *et al.*, 2003)。以下、次号へ

References 1

- Abd Allah, M. A., Mahmoud, R. M., El-Kalyoubi, M. H., and Abou Arab, A. A. (1987). *Starch/Staerke* **39**: 9-12.
- Almeida-Dominguez, H. D., Suhendro, E. L., and Rooney, L. W. (1997). *J. Food Sci.* **62**: 516-523.
- Awika, J. M., Gualberto, D., Rooney, L. W., and Rooney, W.L. (2002). AACC 87th Annual Meeting, October 13-17, Montreal, Quebec Abstract Book, p. 153.
- Bean, S. R., Chung, O. K., Tuinstra, J. F., and Erpelding, J. (2006). *Cereal Chem.* **83**: 108-113.
- Bedolla, S., Palacios, M. G., Rooney, L. W., Dielh, K. C., and Khan, M. N. (1983). *Cereal Chem.* **60**: 263-268.
- Belton, P. S., Deladillo, I., Halford, N. G., and Shewry, P. R. (2006). *J. Cereal Sci.* **44**: 272-286.
- Boyer, C. D. and Shannon, J. C. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, 2th edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 289-312.
- Bettge, A. D. and Morris, C. F. (2000). *Cereal Chem.* **77**: 241-247.
- Cagampang, G. B. and Kirleis, A. W. (1984). *Starch/Staerke* **37**: 253-257.
- Cagampang, G. B. and Kirleis, A. W. (1984). *Cereal Chem.* **61**: 100-105.
- Cagampang, G. B. and Kirleis, A. W. (1985). *Starch/Staerke* **37**: 253-257.
- Chandrashekar, A. and Mazhar, H. (1999). *J. Cereal Sci.* **30**: 193-207.
- Choto, C. E., Morad, M. M., and Rooney, L. W. (1985). *Cereal Chem.* **62**: 51-55.
- Dombrink-Kurzman, M. A. and Bietz, J. A. (1997). *Cereal Chem.* **70**: 105-108.
- Duensing, W. J., Roskens, A. B., and Alexandar, R. J. (2003). *Corn Chemistry and Techonogy*, 2nd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 407-447.
- Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., and Hamaker, B. R. (2003). *J. Cereal Sci.* **38**: 117-131.
- Esen, A. (1987). *J. Cereal Sci.* **5**: 117-128.
- Farnham, D. E., Benson, G. O., and Pearce, R. B. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, 2nd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 1-34.
- Hallgren, L. and Murty, D. S. (1983). *J. Cereal Sci.* **1**: 265-274.
- Hallgren, L., Rexen, F., Petersen, P. B., and Munck, L. (1992). Utilization of sorghum and millets. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
- Hallgren, L. and Murty, D. S. (1983). *J. Cereal Sci.* **1**: 265-274.
- Hamaker, B. R., Mohamed, A. A., Habben, J. E., Huang, C. P., and Larkins, B. A. (1995). *Cereal Chem.* **72**: 583-588.
- Hamaker, B. R. and Bugusu, B. A. (2003). Afripro. Workshop on the Proteins of Sorghum and Millets: Enhancing nutritional and functional properties for Africa. Pretoria, South Africa, 2-4 April (<http://www.afripro.org.uk/papers/Paper08Hamaker.pdf>).
- Johnson, L. A. (2000). *Handbook of Cereal Science and Technology*, 2nd edn. New York: Marcel Dekker, pp. 31-80.
- Kimber, C. T. (2000). *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*. New York: John Wiley & Sons, pp. 3-97.
- Lawton, J. W. (1992). *Cereal Chem.* **69**: 351-355.
- Lawton, J. W. (2000). *Cereal Chem.* **19**: 1-18.
- Lawton, J. W. and Wilson, C. M. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, 2nd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists,

pp. 313-354.

- Mazhar, H. and Chandrashekar, A. (1993). *J. Cereal Sci.* **70**: 667-671.
- Mazhar, H. and Chandrashekar, A. (1995). *J. Cereal Sci.* **21**: 155-162.
- Munch, L. (1995). *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 223-281.
- Murty, D. S. and Kumar, K. A. (1995). *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 185-222.
- Oomah, B. D., Reichert, R. D., and Youngs, C. G. (1981). *Cereal Chem.* **58**: 392-395.
- Oria, M. P., Hamaker, B. R., Axell, J.D., and Huang, C. P. (2000). *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **97**, 5065-5070.
- Osborne, B. G. and Anderssen, R. S. (2003). *Cereal Chem.* **80**: 613-622.
- Patancheru, India, pp. 121-130.
- Pedersen, J. F., Martin, C. R., Felker, F. C., and Steele, J. L. (1996). *Cereal Chem.* **73**: 421-423.
- Pan, Z., Eckhoff, S. R., Paulsen, M. R., and Litchfield, J. B. (1996). *Cereal Chem.* **73**: 517-520.
- Paulsen, M. R. and Hill, L. D. (1985). *J. Agric. Eng. Res.* **31**: 255-263.
- Peplinski, A. J., Paulsen, M. R., and Bouzaher, A. (1992). *Cereal Chem.* 397-400.
- Pflugfelder, R. L., Rooney, L. W., and Waniska, R. D. (1988). *Cereal Chem.* **65**: 127-132.
- Pomeranz, Z. Y. (1986). *Cereal Chem.* **63**: 36-38.
- Pratt, R. C., Paulis, J. W., Miller, K., Nesen, T., and Bietz, J. A. (1995). *Cereal Chem.* **72**: 62-167.
- Reichert, R., Mwararu, M., and Mukuru, S. (1988). *Cereal Chem.* **65**: 165-170.
- Rooney, L. W. and Pflugfelder, R. L. (1986). *J. Anim. Sci.* **63**: 1607-1623.
- Rooney, L. W. and Serna-Saldivar, S. O. (2000). *Handbook of Cereal Science and Technology*, 2nd edn. New York: Marcel Dekker, pp.149-176.
- Rooney, L. W. and Waniska, R. D. (2000). *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*. New York: John Wiley & Sons, pp.689-750.
- Rooney, L. W. and Serna-Saldivar, S. O. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, 2nd edn. St. Paul. MN: American Association of Cereal Chemists, pp.495-535.
- Sahai, M. D., Surjewan, I., Mua, J. P., Buendia, M. O., Rowe, M., and Jackson, D. S. (2000). *Cereal Chem.* **77**: 254-258.
- Seckinger, H. L. and Wolf, M. J. (1973). *Cereal Chem.* **50**: 455-465.
- Serna-Saldivar, S. O., Gomez, M. H., Almeida-Dominguez, H. D., Islas-Rubio, A., and Rooney, L. W. (1993). *Cereal Chem.* **70**: 762-764.
- Serna-Saldivar, S. and Rooney, L. W. (1995). *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp.69-124.
- Shandera, D. L., Jackson, D. S., and Johnson, B. E. (1997). *Maydica* **42**: 281-289.
- Shull, J. M., Watterson, J. J., and Kirleis, A. W. (1991). *J. Agric. Food Chem.* **39**: 83-87.
- Smith, C. W. (2000). *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*. New York: John Wiley & Sons, pp. 401-408.
- Sweat, V. E., Faubion, J. M., Gonzales-Palacios, L., and Rooney, L. W. (1984). *Trans. ASAE* **27**, 1960-1984.
- Waniska, R. (2000). *Technical and Institutional Options for Sorghum Grain Mold Management: Proceedings of An International Consultation*, 18-19 May 2000.
- Patancheru, India: ICRISAT, pp. 72-106.
- Watson, S. A. (2003). *Corn Chemistry and Technology*, 2nd edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 69-106.
- Wall, J. S. and Bietz, J. A. (1987). *Cereal Chem.* **64**: 275-280.
- Wallace, J. C., Lopez, M. A., Paiva, E., and Larkins, B. A. (1990). *J. Plant Physiol.* **92**: 191-196.
- Watterson, J. J., Shull J. M., and Kirleis, A. W. (1993). *Cereal Chem.* **70**: 452-457.

紫茶エキスによる血管内皮依存性 NO 産生促進 およびトレーニング後の筋肉疲労改善作用

Endothelial nitric oxide production enhancement and muscle recovering effects of purple tea extract

竹田 翔伍 (TAKEDA Shogo)¹

Key Words: 紫茶エキス, ポリフェノール, 血管内皮細胞, 筋肉メンテナンス

はじめに

紫茶は、ケニア茶業研究財団 (TRFK; Tea Research Foundation of Kenya) が約 25 年の歳月をかけて作り出した新種のお茶 (*Camellia sinensis*, TRFK306) であり¹⁾, その新芽や若葉は peonidin 3-*O*-glucoside や peonidin 3-*O*- (6"-malonyl) -glucoside のようなアントシアニンを含有するため赤紫色を呈する。産地はケニアの赤道直下、かつ標高 1,500 ~ 2,500 メートルのケニア山の山麓高地で栽培されている。このような栽培環境は紫外線が強いため、紫茶は自身を光障害から守るためにポリフェノールを多く蓄えている。紫茶に含まれる成分としては、緑茶に含まれるフラバノール (epigallocatechin gallate, epicatechin gallate), キサンチン類 (caffeine, theobromine) の他に、紫茶に特有なポリフェノールとして 1,2-di-galloyl-

4,6-hexahydroxy-diphenoyl- β -D-glucose (GHG) を含有している²⁾。また、紫茶の生理活性としては、抗トリパノソーマ活性³⁾ や脳内抗酸化活性⁴⁾ が報告されている一方で、著者らも生理活性に関する研究の結果、紫茶エキスの抗肥満作用を見出している⁵⁾。

一方、近年の筋肉トレーニングブームにより、ワークアウト後の筋肉メンテナンスの重要性が高まってきており、サプリメントも販売されている⁶⁾。このような筋肉メンテナンス作用としては、一酸化窒素 (NO) を含むビートのジュースが、血管拡張作用を介した筋肉メンテナンス作用を示すことが報告されている⁷⁾。そこで、紫茶エキス (紫茶の含水エタノール抽出物) の血管内皮からの NO 産生作用を評価するとともに、ヒトにおける筋肉

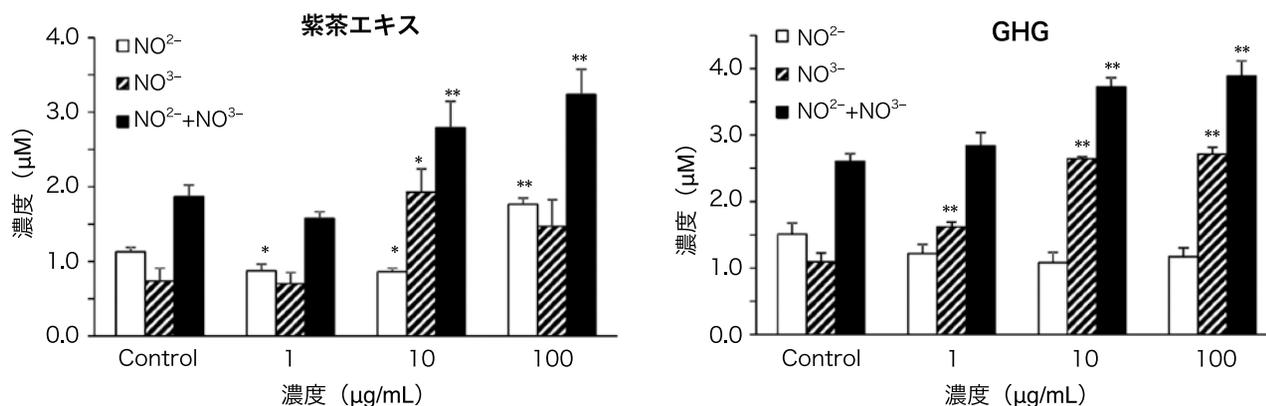


図1 紫茶エキスおよび GHG の血管内皮細胞からの NO 産生促進作用
Mean ± SE (n=4), *: p < 0.05, **: p < 0.01.

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

メンテナンス作用を評価した。

1. 紫茶エキスの NO 産生促進作用

血管内皮細胞から産生される NO は、血管を拡張させる作用があり、これにより毛細血管の血流量が増加する⁸⁾。この作用は、トレーニング後の筋肉を回復させるのに貢献していることがわかっている⁹⁾。血管内皮細胞は老化や運動によって発生する活性酸素 (ROS) による影響を受けており、この ROS を消去することが血管のアンチエイジングや、筋肉疲労の回復に有効であると考えられている¹⁰⁾。ポリフェノールの中では、緑茶に含まれる epigallocatechin gallate やブドウに含まれる resveratrol には血管内皮依存性 NO 合成酵素 (eNOS) の発現を介した *in vitro* における NO 産生促進作用が報告されている^{11,12)}。そこで、紫茶エキスについても NO 産生に及ぼす作用を評価した。

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に紫茶エキスを添加して培養し、24 時間後に NO 産生量を測定した。その結果、紫茶エキスによって NO 総量および NO の酸化物である NO²⁻、NO³⁻ の産生が促進した (図 1)。また、含有成分である GHG には、NO 総量および NO³⁻ の産生促進作用が認められた。これらの結果から、紫茶エキスには血管拡張による血

流改善を介したトレーニング後の筋肉回復作用を有する可能性が示唆された。

2. 紫茶エキスの運動機能向上作用 (アメリカ人対象ヒト臨床試験)

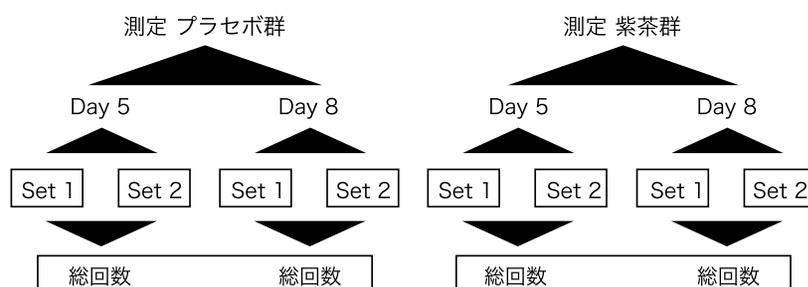
前項で述べたように、紫茶エキスは血管内皮依存性 NO 産生促進作用を有することがわかった。しかし、このような NO 産生促進作用を有するポリフェノールのトレーニング後の筋肉回復における臨床効果は様々である。例えば、ココアに含まれるフラボノイドは血中の ROS 濃度を下げるが、NO 産生には影響を及ぼさない¹³⁾。また、動脈硬化抑制作用で知られている resveratrol もトレーニング後のリカバリー効果は弱いことが報告されている¹⁴⁾。このように、NO 産生促進作用や血流改善効果を有していてもヒトでのトレーニング後の筋肉回復効果には差があると考えられる。そこで、紫茶エキスのトレーニング後の筋肉に及ぼす影響を評価するため、ヒト臨床試験を実施した。

試験は、週に 1, 2 回レジスタンストレーニング (筋肉に負荷をかけたトレーニング) を行っているアメリカ人健康人男性 32 名を対象に、ランダム化プラセボ対照クロスオーバー形式で実施した。被験者の平均年齢は 33.5 歳、体重、BMI とともに典型的なアメリカ人体型であった (表 1)。被験者にはプラセボカプセルまたは紫茶エキス (100 mg) 含有カプセルを 1 日 1 回朝に摂取してもらい、摂取 5 日目および 8 日目にベンチプレス (体重相当量の負荷) およびレッグエクステンション (体重の 50% 量の負荷) を、それぞれ 2 セットで限界まで実施させた。2 週間のリカバリー期間後、被験者には前半とは異なるカプセルを摂取してもらい、同様の試験を行った。トレーニングの前後には採血を行い、各種パラメーターの測定を行った (図 2)。

試験の結果、ベンチプレス回数ではプラセボ群と紫茶群の間に有意な差は見られなかった。その一方で、レッグエクステンション 1 セット目の成功回数が、摂取 8 日目において紫茶群で有意に増加した (表 2)。レッグエクステンションの 2 セット目とトータルの成功回数において

表 1 被験者背景

	平均値±標準偏差	最小値	最大値
年齢	33.5 ± 11.4	18	52
身長 (cm)	178.4 ± 7.6	165	193
体重 (kg)	92.5 ± 13.3	73.7	126.2
BMI (kg/m ²)	29.0 ± 3.4	24.2	34.0
収縮期血圧 (mm Hg)	127.4 ± 9.4	104	143
拡張期血圧 (mm Hg)	78.3 ± 7.1	64	90
脈拍 (回/分)	64.2 ± 9.0	50	82



Set 1 および Set 2 は、いずれもベンチプレスとレッグエクステンションを含む

図 2 測定概念図

表2 介入後の運動パフォーマンス

	Day 5	Day 8	変化量	p-value
ベンチプレス回数 - Set 1				
プラセボ	19.5 ± 8.6	20.0 ± 8.9	0.52 ± 1.7	0.46
紫茶	18.7 ± 7.7	19.6 ± 8.2	1.00 ± 2.8	
ベンチプレス回数 - Set 2				
プラセボ	8.5 ± 3.3	8.6 ± 3.8	0.11 ± 1.9	0.75
紫茶	8.9 ± 4.0	9.2 ± 3.7	0.30 ± 1.8	
ベンチプレス総回数				
プラセボ	28.0 ± 11.2	28.7 ± 12.3	0.63 ± 2.4	0.39
紫茶	27.6 ± 11.1	28.8 ± 11.2	1.28 ± 3.1	
レッグエクステンション回数 - Set 1				
プラセボ	34.9 ± 13.8	35.8 ± 12.3	0.92 ± 7.2	0.05
紫茶	29.1 ± 8.0	33.7 ± 8.4	4.60 ± 4.4	
レッグエクステンション回数 - Set 2				
プラセボ	20.8 ± 4.2	21.4 ± 4.2	0.68 ± 3.1	0.80
紫茶	20.9 ± 5.6	21.8 ± 5.0	0.96 ± 3.7	
レッグエクステンション総回数				
プラセボ	55.7 ± 16.2	57.3 ± 15.5	1.60 ± 8.7	0.09
紫茶	50.0 ± 12.5	55.6 ± 12.7	5.56 ± 5.7	

平均値±標準偏差

表3 筋肉ダメージ・炎症マーカーの変化

	Day 5	Day 8	変化量	p-value
クレアチンキナーゼ				
プラセボ	202 ± 267	262 ± 256	60.8 ± 288	0.98
紫茶	191 ± 137	250 ± 209	58.7 ± 193	
LDH				
プラセボ	170 ± 22	174 ± 28	4.8 ± 17.3	0.01
紫茶	175 ± 26	170 ± 28	-5.5 ± 13.5	
CRP				
プラセボ	1.24 ± 1.41	1.21 ± 1.28	-0.03 ± 0.79	0.66
紫茶	1.01 ± 0.94	1.09 ± 1.11	0.08 ± 0.71	

平均値±標準偏差

表4 レッグエクステンション後のミオグロビンおよび酸素飽和度

	ミオグロビン				酸素飽和度			
	Day 5	p-value	Day 8	p-value	Day 5	p-value	Day 8	p-value
	負荷前		負荷前		負荷前		負荷前	
プラセボ	12.4 ± 0.4		12.5 ± 0.4		52.6 ± 9.2		55.0 ± 8.6	
紫茶	12.5 ± 0.4		12.5 ± 0.4		55.8 ± 8.5		53.4 ± 7.9	
	直後		直後		直後		直後	
プラセボ	12.6 ± 0.5	0.23	12.6 ± 0.4	0.24	14.6 ± 11.6	0.11	16.0 ± 15.4	0.61
紫茶	12.5 ± 0.5		12.5 ± 0.4		13.9 ± 8.8		13.0 ± 10.2	
	30秒後		30秒後		30秒後		30秒後	
プラセボ	12.5 ± 0.4	0.48	12.6 ± 0.4	0.53	49.7 ± 17.1	0.04	46.1 ± 17.2	0.71
紫茶	12.5 ± 0.5		12.5 ± 0.4		45.6 ± 14.3		43.4 ± 18.4	
	60秒後		60秒後		60秒後		60秒後	
プラセボ	12.5 ± 0.4	0.27	12.5 ± 0.4	0.46	67.5 ± 13.5	0.06	64.8 ± 14.0	0.7
紫茶	12.5 ± 0.4		12.5 ± 0.4		65.9 ± 10.3		64.2 ± 17.5	

平均値±標準偏差

は、紫茶エキスによる上昇効果は認められなかった。血中パラメーターについては、トレーニングに伴って骨格筋から逸脱するクレアチンキナーゼが摂取5日目から8日目にかけて両群で上昇したが、紫茶エキスによる抑制は認められなかった(表3)。同様に、炎症マーカーであるCRPにも変化は見られなかったが、細胞障害で逸脱してくるLDH値が紫茶エキス摂取群では摂取8日目においてプラセボ群と比較して有意に低下した。一方、筋肉中の色素タンパクであるミオグロビンはレッグエクステンション後ではほとんど変化しなかったが、摂取5日目の酸素飽和度が、レッグエクステンション30秒後および60秒後において紫茶エキス群で有意に低下した(表4)。

これらの結果から、紫茶エキスは瞬発力が求められるトレーニング開始時の下肢筋肉のパフォーマンスを向上させることが明らかになった。この時、血

中LDHの低下が見られたことから、紫茶エキスはインテンシブトレーニングに伴う筋肉ダメージを軽減したものと考えられる。

おわりに

本稿では、紫茶エキスの血管内皮依存性NO産生促進作用およびヒト臨床試験におけるトレーニング時の筋肉に及ぼす影響について報告した。今回の臨床試験では、紫茶エキスのNO産生促進作用と下肢筋肉パフォーマンス改善作用との関連は示せなかったものの、紫茶エキスは少なくとも筋肉パフォーマンスと筋肉ダメージの改善作用を有することが明らかになった。尚、著者の所属するオリザ油化株式会社(愛知県一宮市)では、紫茶エキスを機能性素材原料として販売しており、同エキスの売上の一部をアフリカの支援のために国際NGOに寄付する取り組みを開始している。

参考文献

1. Cherotich L., et al.: *Am. J. Plant.Sci.* **4**: 628-640, 2013.
2. Yagi K, et al.: *Chem. Pharm. Bull.* **57**: 1284-1288, 2009.
3. Rashid K., et al.: *Parasitol. Int.* **63**: 417-426, 2014.
4. Rashid K., et al.: *Nutr. Neurosci.* **17**: 178-185, 2014.
5. Shimoda H, et al.: *Int. J. Biomed. Sci.* **11**: 67-75, 2015.
6. Martin J.S., et al.: *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **14**: 38, 2017.
7. Richard J. C., et al.: *Physiological Rep.* **6**: e1352, 2018.
8. Tschakovsky ME., et al.: *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **33**: 151-161, 2008.
9. Rovere-Querini P., et al.: *Eur. J. Pharmacol.* **730**: 181-185, 2014.
10. Sindler AL, et al.: *J. Appl. Physiol.* (1985). **11**: 681-693, 2013.
11. Ng HLH, et al.: *J. Nutr. Biochem.* **40**: 23-31, 2017.
12. Li H, et al.: *Int. J. Mol. Sci.* **20**: 2155, 2019.
13. Decroix L, et al.: *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **14**: 28, 2017.
14. Gliemann L., et al.: *Free Radic. Biol. Med.* **98**: 165-176, 2016.

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。

ISO 22000
BUREAU VERITAS
Certification



ISO 22716
BUREAU VERITAS
Certification



Aichi
Quality



伝える心・伝えられたもの

—焼酎と焼酎蒸留器の話—

宮尾 茂雄

(東京家政大学)

江戸時代、天保7(1836)年に出版された「四季漬物塩嘉言」には64種類の漬物が載っている^{1,2)}。その多くが今日も賞味されていることから、漬物のルーツを物語る貴重な本の一つである。漬物は「塩辛い」というイメージが強いが、「四季漬物塩嘉言」には甘い漬物もある。古酒と砂糖を煮立てた「砂糖蜜」に青梅を漬けた「甘露梅」や「らっきょう三杯漬」、みりん³⁾に漬けたウリの「捨小舟」、ナス「鼈甲漬」、干しウリ・塩押しナス・干し大根などを甘酒麴とみりん酒に漬けた「麴漬」などだ。当時のみりんは焼酎に蒸したもち米と米麴を入れて仕込んだ。焼酎がなければみりんは出来なかった。前回のみりに続き、今回は焼酎と焼酎蒸留器を巡る話をしたいと思う。

蒸留酒と蒸留技術

酒造りの始まりは、今から約8000年前といわれている。南コーカサスにある新石器時代の遺跡から出土した土器の内面から、葡萄の種やワインの残り滓と思われるものが見つかっている³⁾。蒸留酒は、ワインなどの醸造酒の歴史に比べると新しい。紀元前750年頃には古代エチオピアで蒸留酒が造られていたようだ⁴⁾。蒸留技術は古代エジプト、ギリシャ、ローマ時代を経て改良、発展した。3世紀のヨーロッパでは、水夫は海水を蒸発させ、その結露から、航海に欠かせない真水を手に入れていた⁵⁾。9～12世紀、科学技術を重要

と考えていたアラビア人は、錬金術とともに蒸留技術にも工夫を重ねた。蒸留器の名称「アランビク」はアラビア語に語源があるといわれている^{4,5)}。

蒸留技術は中東からヨーロッパへ伝えられ、14世紀にはフランスでワインの蒸留酒を樽で保存(熟成)するようになり、ブランデー(アルマニャック)が誕生した⁵⁾。

蒸留技術の東への伝播はシルクロードなどを通してタイを経由し、13～14世紀頃、元の時代の中国に伝えられ⁴⁾、白酒(焼酒、火酒)が誕生した。ただし、中国の蒸留技術はアラビア伝来というよりも、現在の雲南省や南アジアで広く使われている蒸す調理法(蒸し器)を応用した蒸留器から独自に生み出されたものと考えられている^{4,5)}。蒸し器の起源は6000～7000年前の中国新石器時代に遡る。出土した鬲^{れき}とよばれる土器(図1)は、三脚のうえに壺状の胴体がつく。三脚の中に水を入れて下から加熱して蒸気を発生させ、胴体の上に甑^{こしき}を載せた⁶⁾。古代中国では、食物を蒸して食べるが多かったとされる。



図1 鬲：考古図編⁶⁾，国立国会図書館デジタルコレクション(インターネット公開)

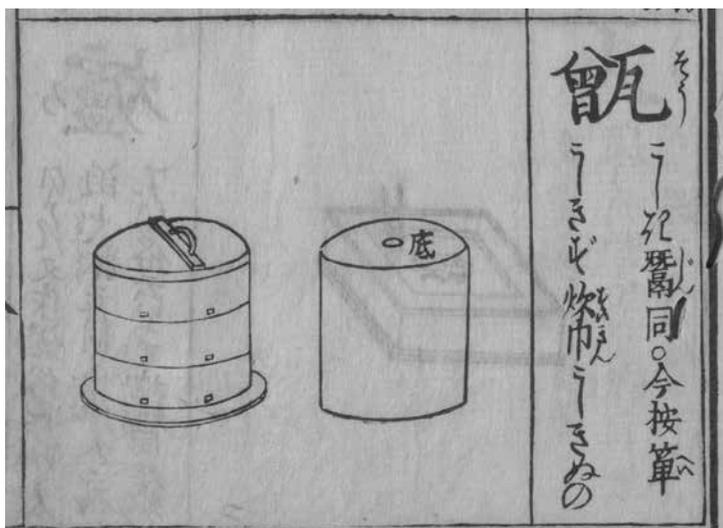


図2 甑(左)には底の部分になかった。釜の上に底に孔のある板蓋(右)を置くか、箆(へい)と呼ばれる竹製の小さいかごなどを用いた:中村惕齋編,訓蒙図彙(きんもうずい)20巻[9],出版山形屋,寛文6(1666)年,国立国会図書館デジタルコレクション(インターネット公開)

日本でも蒸し器の原型となる^{こしがた}甑形土器が、弥生～古墳時代の遺跡から発見されている。平安時代までは、米を炊く場合は蒸す方法が一般的で、強飯にした⁷⁾。その後、甑形土器は使われなくなり、円形あるいは正方形の木製の甑にとって代わった。甑は地方によっては蒸籠(せいろ, せいろう)ともよばれている(図2)⁸⁾。

蒸留技術と焼酎の日本への伝来ルートには諸説ある。小泉武夫先生はそのルーツが中国雲南省にあり、メコン川から南方に渡り、シャム(現在のタイ)から琉球を経て薩摩に伝わったと論じられている⁹⁾。

江戸時代から明治初め頃の焼酎蒸留器

焼酎蒸留器の誕生には酒造りの技術が応用されている。酒造りに必要な大量の蒸米は、大型の甑^{こしがた}で蒸し上げた。木製甑に縄を巻く(縄巻き)ことで熱を逃げにくくし、保温効果を高めた(写真1)。酒米の蒸し器から木製甑型蒸留器が生まれた。それを改良した木製甑型粕取り蒸留器が誕生し、江戸時代から明治前半にかけて焼酎造りに使われていた⁴⁾。

江戸時代、焼酎は酒粕や変敗した酒(あるいは「酸壊した酒¹⁰⁾」)を原料とした粕取り焼酎だった。現代の酒粕1kgには70～90mLのアルコールが残っているが、^{ふね}船(槽)とよばれる压榨機(写真2)を使っていた当時の酒粕は、今よりアルコール含量が高かったことも想像される。アルコールは稲の根を枯らすことから酒粕を蒸留し、得られた焼酎は田植え後のお祭りの御神酒にした。蒸留後の下粕は肥料にして



写真1 蒸米造りの木製甑, 大釜で湯を沸かして蒸気を吹き込む(月桂冠大蔵記念館)



写真2 船, あるいは槽とよばれる日本酒の木製压榨機(同)



図3 焼酒:寺島良安編,倭漢三才図会,出版秋田屋太右衛門他,文政7(1824)年,国立国会図書館デジタルコレクション(インターネット公開)

いた¹¹⁾。焼酎造りは酒造家の副業でもあった¹¹⁾。

和漢三才図会¹⁰⁾によると焼酎は、「釜(竈)の上で大釜(下釜)を置き、その上に円筒形の甑を載せる。甑には新酒の糟と擦り糠を交互に入れる。甑の蓋の上に冷却用の水を入れた上鍋(上釜)を置き、下釜の湯を沸かす。蒸されて上釜の底についた滴露を筒に受けて取る。味は濃烈で、まさに酒の露である」(図3)。

江戸時代の流山(現在の千葉県流山市)は酒造業が盛んだったが、江戸中期になると上方からの下り酒におされ、酒が売れなくなった。酒造りの技術と酒粕を利用して1800年代初め頃、みりん造りを始めた¹²⁾。その頃江戸では蒲焼き、餡かけ、煮物などの調味料としてみりんが使われ始めた。質のよい流山みりんは江戸で大評判になった。江戸時代創業のみりん醸造元、秋元家や堀切家などの文書や道具の一部が流山市立博物館に寄贈され、公開されている。明治5(1873)年に作成された秋元本家文書「奥国(オーストリア)博覧会味醂造伝説書上」はみりん製造法を解説したもので、当時のみりんや焼酎造りに関する道具雛形(絵図)が載っている¹³⁾。

この雛形や和漢三才図会をもとに、焼酎蒸留装置の組み立てを試みた。竈にすえた大釜(焼酎下釜)(図4,上)の上に、蒸気の漏れを防ぐ月の輪(パッキング)(図4,左下)を敷き、その上に(多分篋の子付きの)焼酎甑(図5,右上)をセットする。甑の上に焼酎上釜を置く(図4,右下)。薪で大釜の水を沸騰させ、酒粕を蒸す。焼酎上釜には水を入れて釜の底を冷やし、できた結露を請わん(図5,中央)に集め、とひ(樋)をつかって焼酎入桶に溜める(図5,左)。上釜の水が温湯になると水を入れかえる(温湯交換法は不明)。蒸気の通りを良くするため酒粕には粃殻を混ぜた¹¹⁾。

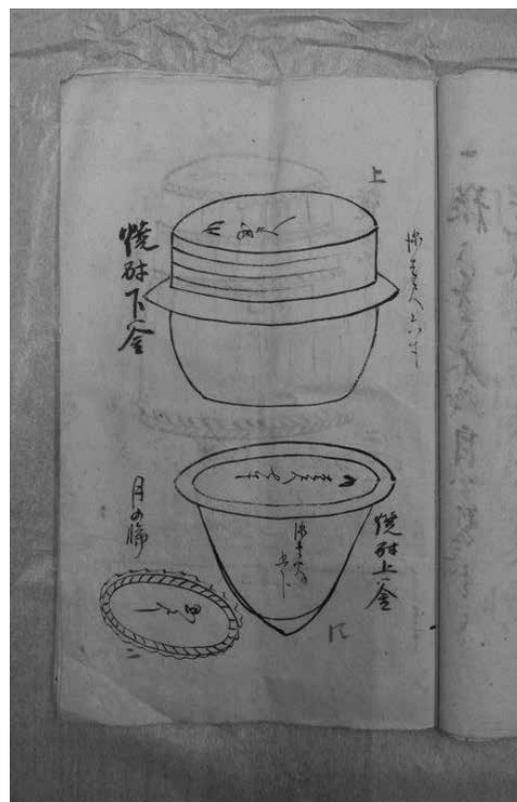


図4 焼酎下釜, 同上釜, 月の輪, 「奥国博覧会味醂造伝説書上」¹³⁾, 流山市立博物館所蔵

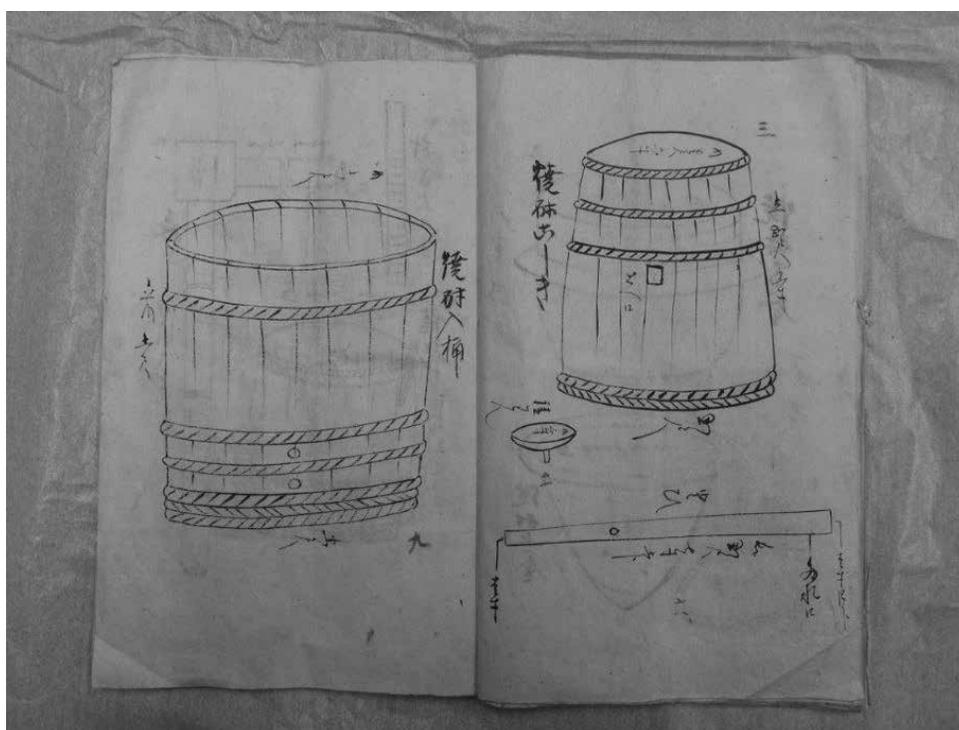


図5 焼酎甑, とひ, 請けわん(同上)

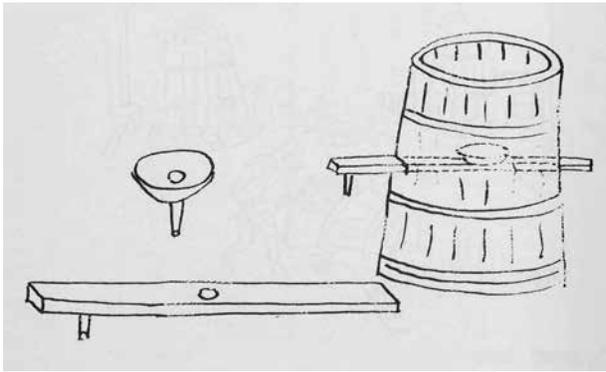


図6 焼酎甑, 樋, 漏斗, 「日本製菓技術史の研究」¹⁴⁾, 国立国会図書館デジタルコレクション(インターネット公開)

「日本製菓技術史の研究」にも江戸時代の焼酎造りに関する記述がある¹⁴⁾。甑の底板には丸穴が7～10個あり, この穴から甑の中に蒸気が吹き込まれた。甑の側面, 中ほどに四角の笥(樋)を差し込み, 笥中央の丸穴に漏斗を立てる。焼酎の滴露は漏斗に集まり, 笥を伝わって外に流れ出る仕組みになっている(図6)。3連式の甑それぞれに甑を置いて同時並行で蒸留作業をする量産体制が出来ていたようだ(図7)。冷却装置である上釜の上には樋が渡してあるように見える。上釜の水が暖まると, 人の手で交換し

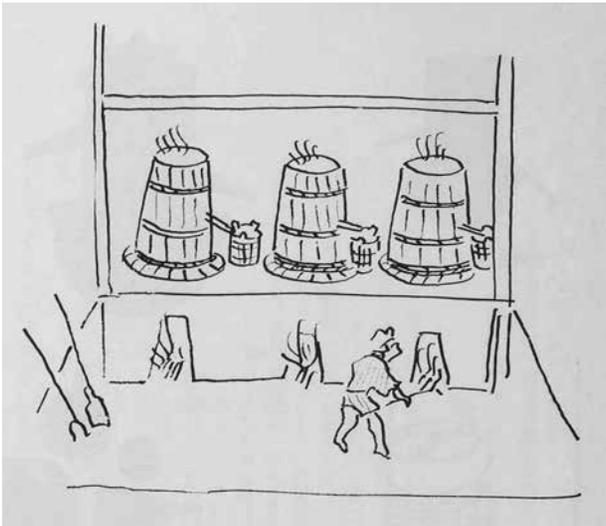


図7 蒸留の状景, (同上)

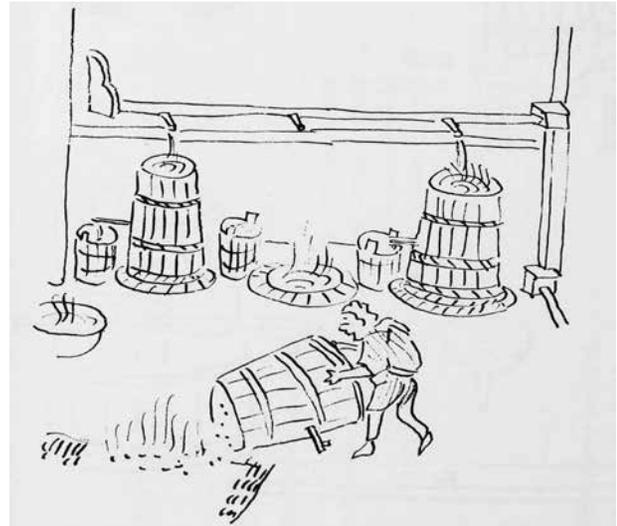


図8 蒸留滓を取り出す, (同上)

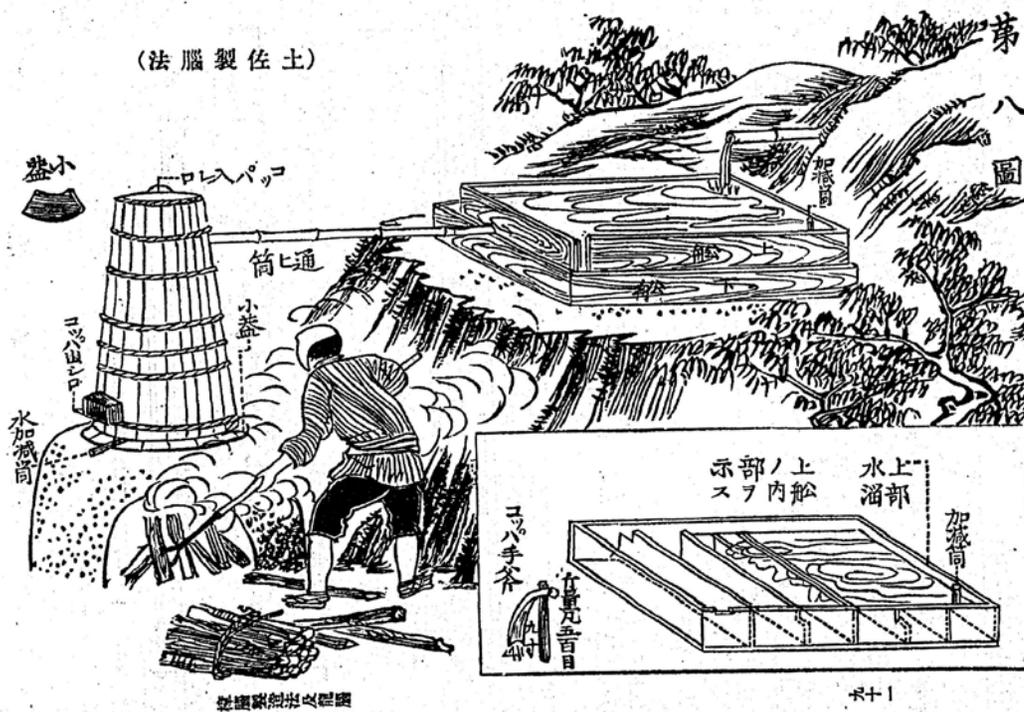


図9 土佐式製脳法, 甑の下部「水加減筒」で釜の中の水量を調整する。三溝謹平著:「くすのき」福井正吉発行, 明治38年, 国立国会図書館デジタルコレクション(インターネット公開)



図10 樟脳製造法，平瀬徹斎他編：日本山海名物図会 5巻 [3]，塩屋卯兵衛他，寛政9（1797）年求版，国立国会図書館デジタルコレクション（インターネット公開）

ていたのか、樋から冷たい水をかけ流しにしていたのかは残念ながら分からない（図8）。蒸留が終わるたびに甑の中の蒸留滓を取り出して、新しい酒粕と粃殻に入れ替える必要があった（図8）。木製甑型蒸留器は今でいう単式蒸留装置である。

このような木製甑型蒸留器は、焼酎以外にも利用されていた。江戸時代後期，万延元（1860）年頃に始まった土佐式樟脳製造法（土佐式製脳法）は、大釜で湯をわかし、甑の中の樟（クスノキ）を蒸し、蒸気を通い筒で冷却水槽に送る外取り式水蒸気蒸留法である（図9）。樟の木つ端を釜で煎じ、蓋（鉢，素焼きの炮烙）に付着した白い結晶を集める従来の乾式抽出法（焙烙法）と比較すると（図10），効率よく樟脳を抽出できるようになった。また船乗りが使用した木製甑型蒸留装置は、直釜で海水を沸騰させて真水を得ていた（図11）。木製甑型蒸留装置は、その他薄荷の抽出など様々な分野で利用されていたことが分かり、興味深い。

江戸時代には「ランビキ」と呼ばれる卓上蒸留器も使われていた（写真3）。本朝食鑑（元禄10（1697）年）には、「焼酒は、新酒の糟を甑に入れ、蒸して蒸気を上がらせ、器で滴露を承けて取る。



図11 諸国船方衆中心得のための施板，「日本製薬技術史の研究」¹⁴⁾，国立国会図書館デジタルコレクション（インターネット公開）



写真3 らんびき，下から沸騰槽・蒸留槽・冷却槽。沸騰槽から発生する水蒸気に蒸留槽の酒粕成分が混じり，冷却槽の内側で結露したものを，下の管から取り出す（内藤記念くすり博物館）

（略）酸壞（酸敗の意か）の酒からも取れる」とある¹⁵⁾。この甗は俗に羅牟比岐（ランビキ）といい，もともと南蛮の器で銅製，ビードロ製などがあつたと記述されている。

ランビキは，ポルトガル語 Alambique に由来し，南蛮医学とともに日本に伝えられた¹⁶⁾。江戸の蘭方医や漢方医などはランビキで焼酎を自家蒸留していた。焼酎には鬱（気がうっ滞して病を起す）を開き，膈噎（胸がつまってむせること）を通じさせるなどの薬効が知られていた^{10,15)}。傷口の消毒にも広く使われたが¹⁴⁾，創傷感染の予防に効果があつても刺激性が強いので，かなりの荒療治だつたであろう。江戸後期になると，ランビキは大名家や上流家庭などにも普及した。焼酎は異国酒として珍重され，薬草類からの香料成分抽出などにも使われた。ただし小型のランビキでは大量の焼酎は造れず，醸造業では木製甗型蒸留器が使用されていた。

出版物からみる明治中頃から大正期前期の焼酎蒸留器

明治 18 年に出版された「銘酒製造法」には，「焼酎造りには竈に鉄製の平釜を仕掛け，薪を炊いてその上に孔底の木樽をのせ，冷水を盛った平釜を凝結器として載せる」と

あり，江戸時代と同じような木製甗型蒸留器が使われていたようだ¹⁷⁾。同書によると当時のアルコール分は酒粕がおよそ 6%，焼酎は 20～40% である。測定方法や精度の比較はできないが，蒸留器の性能は数値的に現在のものに劣らないように思われる。明治 42 年出版の「農産製造教本」（農学校の実用教科書）によると原料として，酒粕や腐敗酒などの酒精含有物以外に，馬鈴薯，甘藷，穀類などを発酵させて酒精（エタノール）が造られるようになる。焼酎は飲料やみりんだけではなく，純度の高いものは工業用に利用され

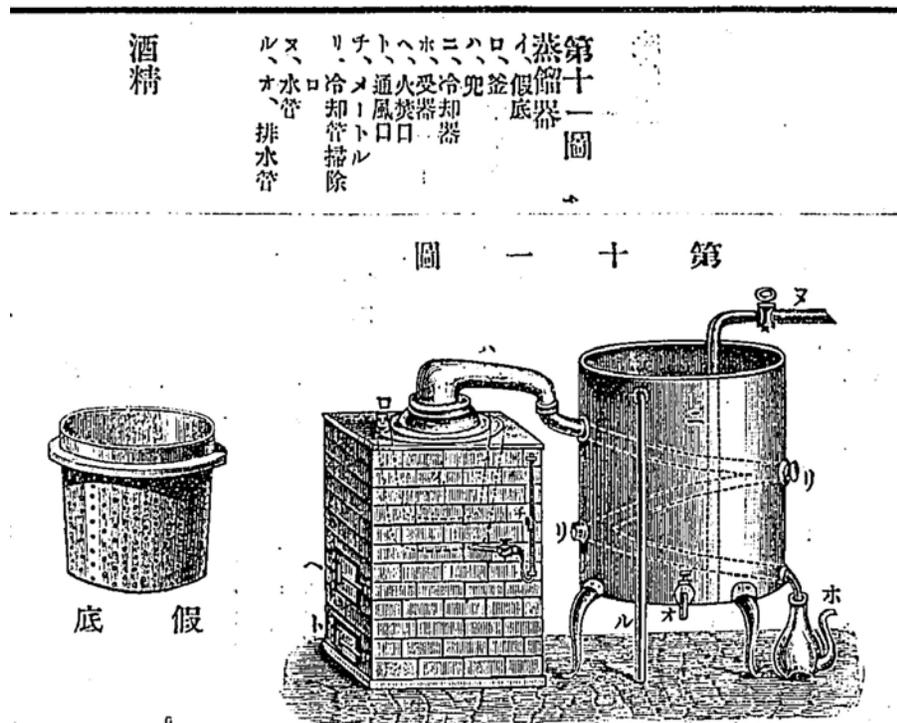


図 12 蒸留装置，「農産製造教本」¹⁸⁾，国立国会図書館デジタルコレクション（インターネット公開）

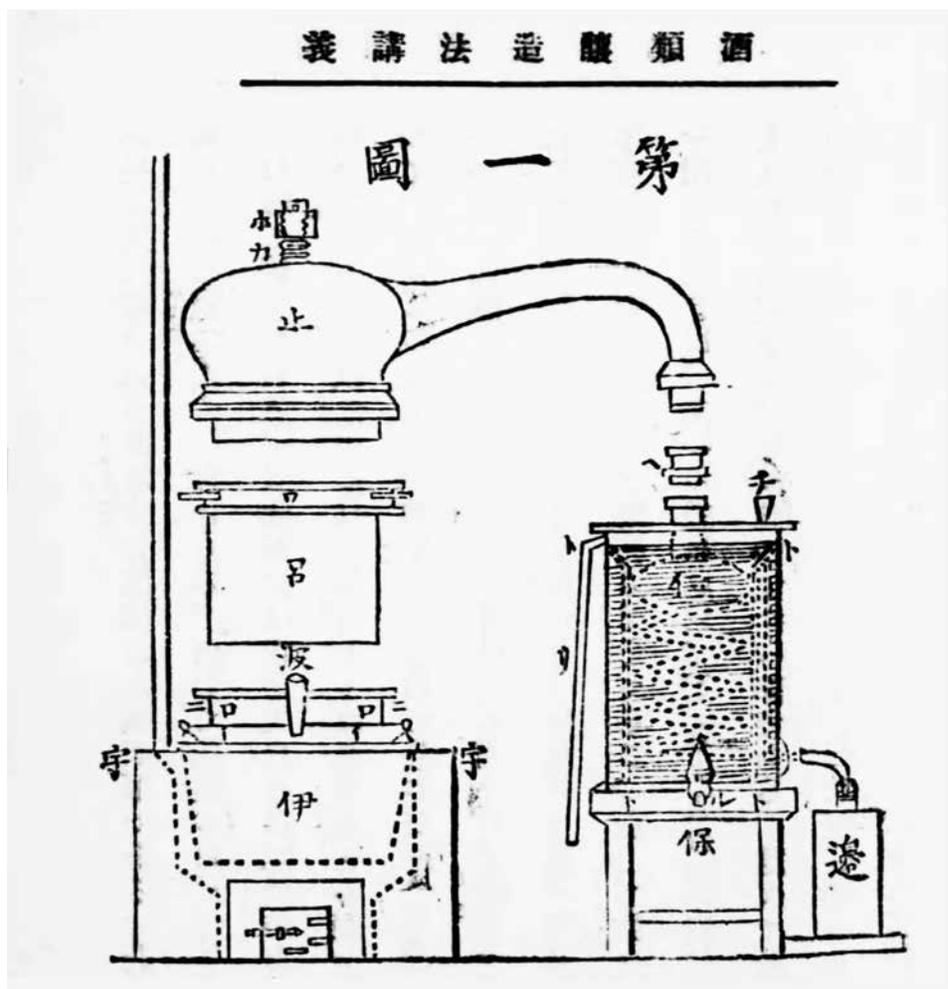


図13 キュルヒット「実験工業品製造講義」¹⁹⁾，国立国会図書館デジタルコレクション（インターネット公開）

るようになり，用途が広がっていく。蒸留装置（図12）は金属製の釜，兜（図のハ），連続的冷却器（図の二）と焼酎の受器（図のホ）から構成され，蒸留酒は1回の蒸留で足りるが，純度の高い酒精を得るには反復蒸留を行うか，連続蒸留器を使用する必要があった¹⁸⁾。馬鈴薯，甘藷，穀類などを発酵させた醪もろみは直釜で加熱して蒸留し，酒粕など固形状の醪は，図の左側の「假底」かりそこ（図のイ）に酒粕に約1割の粗穀を混ぜ入れて釜にセットし，直接加熱しないで水蒸気を吹き込んで蒸留していた。

大正6年出版の「実験工業品製造法講義」では，旧来の蒸留法は効率が悪いと指摘している。迅速蒸留法「キュルヒット」とよばれる葫蘆（ヒョウタン）状の蒸留甕が登場する（図13）¹⁹⁾。装置は大釜（図の伊，液体原料を入れ，そのまま蒸留できる）と水浴甕（図の呂，湯煎釜，酒粕などを蒸留するとき使用），兜（図の止）と兜わたりの頸，冷却槽（桶）から成る。コイル状の蛇管（凝結管）（図の仁）は冷たい水が流れる冷却槽の中を通るので，効率的に結露を回収できた。少量の蒸留には硝子（ガラス）蒸留壺「レトルト」（図14）という器（図のイ）と蒸留具（図のロ）を用いた。これはイを加熱し，ガラスの頸の部分と蒸留

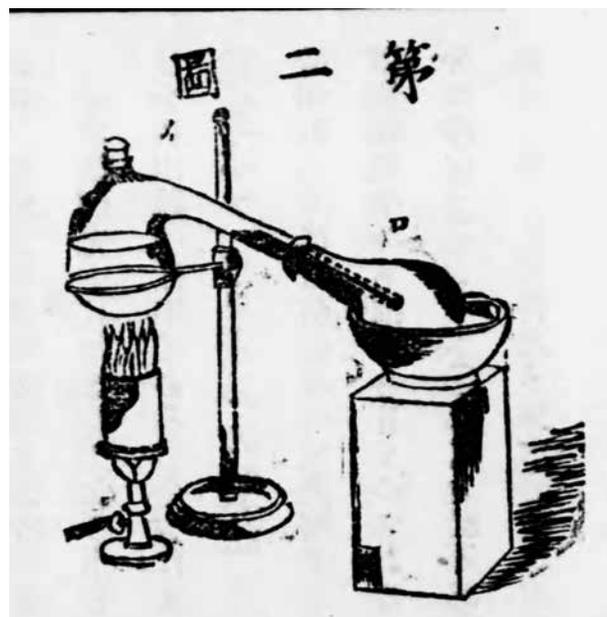


図14 レトルト，(同上)

具を湿布で包み、冷水を流注して冷やす方式だ。これは私が大学生の頃、化学実験で使っていた蒸留装置の原型のようで懐かしい¹⁹⁾。工業用アルコールの需要の高まりとともに、焼酎や酒精蒸留器の改良、開発が進んだことがわかる。

従来の単式蒸留装置とは違い発酵醪を連続的に供給し、発生する蒸留滓も連続的に取り除く連続式蒸留装置は19世紀にイギリスやドイツで開発された新しい技術で、明治28年頃日本に初めて輸入された。東京板橋区の東京家政大学の近くにあった陸軍板橋火薬製造所などでは、94%の高純度アルコールが造られるようになった¹¹⁾。明治43(1910)年には高純度アルコールを水で薄めた焼酎が誕生し、「新式焼酎」、「酒精式焼酎」と呼ばれた¹¹⁾。一回の蒸留量が比較的多量で、手間をかけずに製造できることから、各地に新式焼酎会社が建設され始めた。これは無臭焼酎ともいわれ、淡白で風味が少ないが、それまで欠点とされた焦げ臭がないことで、一部で人気を集めたようだ。新式焼酎(現在の連続式蒸留焼酎、焼酎甲類に該当)に対し、従来の焼酎を旧式焼酎(現在の単式蒸留焼酎、焼酎乙類本格焼酎)とする分類も誕生した。

当時の旧式焼酎の蒸留器

旧式焼酎の蒸留器には、当時「ツプロ式」、「兜釜式」、「蒸気吹き込み型」などがあった^{4,11)}。「兜釜式」蒸留器は、木製甕・冷却鍋・漏斗・導管からなる木製甕型蒸留装置に近いものといわれている¹¹⁾。「ツプロ式」は、鹿児島民具学会の徳留秋輝氏によると「ツプロ(粒露)の名称の由来は、穀物を蒸留して蒸留酒(焼酎)にするという意味でつけられたと思われる。直釜式で、醪を煮沸するタイプで、粒露の粒は穀物を、露は蒸留酒(焼酎)を指す。」という²⁰⁾。鹿児島県で多用され⁴⁾、味わい深い焼酎が造られていた。

木樽蒸留器

「ツプロ式」と「兜釜式」の蒸留器は現在使われていない。しかし明治～大正時代に誕生した蒸気吹き込み型蒸留器は、「木樽蒸留器」として現在、一部の本格焼酎造りに利用されている。重さ1トンの「醪」と100℃の熱にもビクともしない大型の「木樽蒸留器」を造ることのできる職人は現在、鹿児島県曾於市の津留安郎さん唯一人ともいわれている²¹⁾。インタビュー記事によると、「焼酎蔵の方に聞いても皆さん一様に、「木樽の蒸留器でしか出せない、口当たりのやわらかさ、まろやかさがある」と言ってくれます。私も昔から焼酎が好きですが、お芋や麦、お米といった原料の香りや味わいが優しく出ているように感じます。」と書かれている。また、樽材には樹齢80年以上の「杉の木」と、樽の箍^{たが}に使う竹が必要だ。若い木は年輪が詰まっていない、つまり伸縮が激しくなって、変形してしまうそう²¹⁾。

白金酒造株

津留安郎さんの木樽蒸留器による焼酎造りを行っている蔵元、鹿児島県^{あいら}始良市にある白金酒造(株)を訪れた



写真4 白金酒造(株)石蔵



写真5 運搬などに用いられていた焼酎甕(白金酒造(株))



写真6 伝統的な焼酎作りの模型（白金酒造(株)）



写真7 蒸しあがったコガネセンガン、泥や皮をていねいに取り除くことを「磨き芋」という



写真8 仕込室、仕込み甕は温度管理のために地中に3分の2程埋めて使用する



写真9 発酵中の二次醪

(写真4, 5)。白金酒造(株)は創業明治2年、鹿児島で最古の焼酎蔵である。薩摩の芋焼酎は、甘藷の普及した1700年代に始まったとされている¹¹⁾。昭和61年、白金酒造(株)の焼酎杜氏「黒瀬 東洋海」氏は明治時代の焼酎の再現をめざして木樽蒸留器による製造を始めた。芋焼酎（醪取焼酎）造りと木樽蒸留器の概略を紹介したい(写真6)²²⁾。

清酒は黄麹菌を用いるが、焼酎はクエン酸を生成する白麹菌を使う。米を蒸して40℃くらいまで冷めたら、白麹菌を接種する（種掛け）。麴室で二晩かけて麴を育てる（製麴）。甕の中に麴，酵母，仕込み水を加える。酵母を大量培養するとともに、醪の変敗を防ぐためクエン酸や酵素類の生成を目的とした一次仕込みを行う。完成すると酒母と呼ばれる一次醪ができる。一次醪に蒸したサツマイモ（鹿児島産コガネセンガン）(写真7)を混ぜ、二次醪とする（二次仕込み）(写真8)。醪の温度が30℃を超えないように温度管理を行い、約10～14日間アルコール発酵を維持する（醪の管理）(写真9, 10)。発酵中の二次醪を見せていただいたが、勢いよく音を立てて泡立つ様子に感動を憶えた。二次仕込みでできた焼酎醪(写真11)を焼酎用の木樽蒸留器で蒸留し、焼酎を貯める（蒸留）。ゆっくり寝かせて熟成させ、ブレンドして味、香りを調整する（貯蔵、ブレンド）。



写真10 発酵最盛期には、ブツブツ気泡のはじける音とともに、醪が周囲に飛び散る

蒸気吹き込み式蒸留装置（一式）(写真12)は、ボイラーで蒸気発生釜の湯をわかし(写真13)、発生し



写真 11 発酵が終わると醪は蒸留器に移され、甕は空っぽになる



写真 12 木樽蒸留装置

た水蒸気を中央の蒸留樽に下から吹き込んで醪を加熱する（木樽蒸留器）（写真 14）。発生したアルコール分を含む蒸気は渡り（ウマ）を通り、右側にある冷却槽の蛇管で冷やされ、結露が留甕に集められる。見学させていただいたときは、冷却器からはまだ湯気が上がり、無色透明な焼酎原液が溜甕に流れ出ていた。木樽蒸留器は、木の香りが焼酎に移り、独特の香りや味わいが出てくる。ステンレスに比べると熱伝導率は劣るが、その分ゆっくりと熱が発散され、美味しい焼酎ができあがるという。



写真 13 蒸気発生装置（ボイラー使用）



写真 14 蒸留樽

白酒

最後に白酒（パイチュウ）造りに使われる蒸気吹き込み式蒸留器を紹介したい。私が客員教授をしている四川大学の張文学先生は白酒の専門家である。先生のご案内で、四川省成都市郊外の平楽（写真 15）に近い白酒工場を訪ねた。白酒の醪はコウリャン、大麦、小麦などに大曲とよばれる麴を混合し、地面に掘った四



写真 15 平楽古鎮



写真 16 発酵池（窖池こうち、穴蔵）による固体発酵



写真 17 金属製の大型円形の単式蒸留器，醪の出し入れは三角錐型の蓋を移動させて行う



写真 18 蒸留器の底は金属孔目になり，蒸気が吹き上がる。蒸留が終わり，蒸留粕を取り出した蒸留器内部



写真 19 冷却されて滴り出る白酒原酒



写真 20 林の中に置かれた甕による熟成

角い穴に入れて発酵させる「固体発酵法」を用いる（写真 16）。発酵の終了した固体醪は，金属製の大型円形の単式蒸留器に移され（写真 17），下から蒸気を吹き込まれて（写真 18），アルコール分 65% 前後の原酒が生まれる（写真 19）²³⁾，（図 15）。蒸留作業場は湿気と湯気，熱気に包まれ，その中で上半身裸の作業員が忙しく働いていた。原酒は甕に貯えて熟成させる（写真 20）。蒸留粕は家畜の飼料に利用される。四川大学での集中講義の後はいつも白酒で歓待される。小ぶりのグラスで一気におおるので，アルコールに弱い私などはすぐ真っ赤になってしまう。お世話いただいている先生方はまったく顔色が変わらない。皆さん酒豪である。

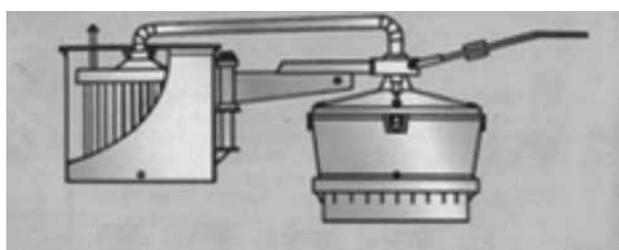


図 15 白酒の蒸留装置絵図，右は蒸留器で蒸気発生器は半地下埋め込み式，左冷却器。四川大学張文学先生提供

流山市立博物館で出会った江戸時代後期の木製甕型粕取り蒸留器から始まり，明治，大正時代の焼酎蒸留器の変遷を追いながら，現代の木樽蒸留器にたどり着いた。焼酎は飲料やみりん原料だけではなく，工業需要（酒精）の増大により，時代とともに様々な蒸留器が開発されてきたことがわかり，面白かった。

今の焼酎や高濃度エタノールを製造する日本の蒸留技術のルーツが，16世紀初頭に誕生した焼酎造りにあったことを思うと感慨深いものがある。

謝辞

「喫国博覧会味醂造伝説書上」の閲覧，撮影に際してお世話になった流山市立博物館北澤滋様，上条静香様，見学の便宜を図っていただき貴重なお話を聞かせていただいた鹿児島県工業技術センター安藤浩毅様，白金酒造(株)川田庸平様，池田浩二様，蒸留器絵図を提供して頂いた四川大学張文学先生に心から感謝申し上げます。

訪れた場所

流山市立博物館：千葉県流山市加 1-1225-6，流鉄流山駅から徒歩 10 分

月桂冠大倉記念館：京都市伏見区南浜 247，京阪本線中書島駅から徒歩 5 分

内藤記念くすり博物館：岐阜県各務原市川島竹早町 1，名鉄各務原市役所駅から「ふれあいバス」で 30 分

白金酒造(株)，石蔵ミュージアム：鹿児島県始良市脇元 1933，JR 日豊本線 重富駅徒歩約 2 分。

参考資料

1. 小田原屋主人：四季漬物早指南初編，書肆小林新兵衛他，天保 7 (1836) 年丙申春
2. 宮尾茂雄：伝える心・伝えられたもの—「漬物塩嘉言」小田原屋主人—，*New Food Industry* **57** (1): 2015.
3. 岩科司他：ワイン展 (2015.10.31 ~ 2016.2.21 国立科学博物館開催) 図録，読売新聞発行 2015.
4. 米元俊一：世界の蒸留器と本格焼酎蒸留器の伝来について，別府大学紀要第 58 号，2017.
5. ベッキー・スー・エプスタイン著，大間知 知子訳：「食」の図書館 ブランデーの歴史，原書房 2017.
6. 東京帝国大学編：考古図編 文学部考古学研究室蒐集品第 1 輯，美術工芸会 1927.
7. 石毛直道：食卓の文化誌，文藝春秋 1979.
8. 高橋幹夫：江戸萬物事典—絵で知る江戸時代，芙蓉書房 1994.
9. 小泉武夫：焼酎の伝播の検証と，その後に於ける焼酎の技術的発展，東京農大農学集報，54 (4): 2010. NHK 「素晴らしき地球の旅 発酵食品のルーツを求めて～中国雲南食紀行～」(初回放送：1997 年，2019 と 2020 年に再放送)
10. 寺島良安編，島田勇雄他訳注：和漢三才図会 18，平凡社 1991.
11. 菅間誠之助編著：焼酎の事典，三省堂 1985.
12. 宮尾茂雄：伝える心・伝えられたもの—流山みりん—，*New Food Industry* **62** (4): 2020.
13. 流山市立博物館所蔵の味醂製造法「喫国博覧会味醂造伝説書上」(明治 6 (1873) 年オーストリア・ウィーンで開催された万国博覧会出品のため準備した解説書，秋元家文書 No.2167) および流山市立博物館編集・発行：流山の醸造業 I [資料編] (平成 16 (2004))
14. 本田一：日本製菓技術史の研究，日本醫史學雑誌 **11** (3): 1990.
15. 人見必大著，島田勇雄訳注：本朝食鑑 1，平凡社 (昭和 51 (1976))
16. 菊池俊彦編：図譜江戸時代の技術上・下，恒和出版 (1988)
17. 銘酒製造法：海老原幸二郎著，出版高崎修助 (明治 18 (1885))
18. 木元長太郎：農産製造教本，成美堂 (明治 42 (1909))
19. 鴨田脩治編：実験工業品製造法講義，戸取書店 (大正 6 (1917))
20. 徳留秋輝：蒸留酒器の分類とツプロの伝来について，鹿児島民具学会 11 月例会，かごしま県民交流センター 2006.
21. Japan Vision Vol.127，地域の未来を支える人「焼酎用木樽蒸留器職人，津留安郎さん」更新日：2018 年 10 月 22 日
22. 白金酒造(株)のホームページと DVD 「伝統の焼酎作り」
23. 李大勇：中国四川省の酒とその発展について，日本醸造協会誌 **87** (2): 1992.

Studying abroad: perspectives of Japan's daily life

David Bautista-Martinez¹, Satoshi Yokose², Rogelio J. Scougall-Vilchis¹, Hiroshi Sakagami³

¹Division of Orthodontics, Center for Research and Advanced Studies in Dentistry "Dr. Keisaburo Miyata", Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.

²Division of Endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials Sciences, School of Dentistry, Meikai University, Saitama, Japan.

³Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO), Saitama, Japan.

Key Words: Mexico, Studying abroad, Japan's daily life

Introduction

Over the years, Mexico and Japan have built a strong and friendly relationship that has been reflected in several fields. Commercial trade is perhaps the most important of these, with a great Japanese flow of investment that promotes the creation of new jobs, training, and infrastructure, standing out the automotive industry and the electronic sector, and other areas, as the Nikkei community that has been part of Mexico for more than 100 years, representing a cultural bridge for both nations. Nowadays, a mutual interest in approaching to each other's identity is evidenced through different events like the "Haru Matsuri" and the "Lights of Japan" held in Mexico City, and expressions like gastronomy, with presence in both countries, and the teaching of the languages, offered in numerous centers.

Academic exchange has become a major element during the education and instruction of any professional, given the multiple benefits and outcomes gained. The experience of a different approach to education at a foreign country leads to a more global view of learning and the acquisition of skills to solve problems. On this matter, I was very interested in coming to Japan for educational and personal reasons, and it represented an opportunity to deepen into academic sources and research conducting, and at the same time to explore the domestic and social features of the daily life, some of which I share next to provide an overall perspective.

Coming to Japan

For long, I have been attracted to experience of different cultures and to find out the diversity about doing

anything across the world. Dentistry is not the exception and I had always wanted to enrich my knowledge and my professional skills with training overseas. My alma mater, the Autonomous University State of Mexico and Meikai University have a long story in the field of dentistry, beginning a partnership agreement dating from 1979. I am a graduated from orthodontics course and currently enrolled in a Master's in Dental Sciences, and when I was planning to make a research stay abroad, my first option was Meikai University, given the close relationship and the excellence in its academic programs. Besides, Dr. Rogelio Scougall, my academic tutor, who got his PhD degree from Asahi University and promotes the bilateral relationship between these universities, encouraged me to take this opportunity.

Paperwork progressed well and I was finally accepted by Dr. Satoshi Yokose to work at his laboratory during a six-month period. Dr. Yokose is the head professor of the Endodontics and Operative Dentistry Division at Meikai and a pioneer in the use of laser therapy, both researching and using clinically. Last year, before coming to Japan, I had the opportunity to meet him in Mexico, when he participated as a lecturer at a congress related to the celebration of the 55th anniversary of UAEM's Faculty of Dentistry and the 40th anniversary of the brotherhood with the Universities of Meikai and Asahi, and since then I was even more willing to come to Meikai. The rest is history (**Picture 1**).

Japanese culture and people

I always say that one gets to know a place through its people. Every time I go to a new country, I am an



Picture 1. A. Performing animal experiment. B. Hiroshi Sakagami and Rogelio J. Scougall at a meeting in 2006. C. Department of Endodontics and Operative Dentistry, Meikai University. D. Hiroshi Sakagami, David Bautista, and Satoshi Yokose.

enthusiast about getting the local experience and not just the typical touristic view. This time, of course, was different and special for me, this was about a *gaikokujin* getting the whole Japanese style as a student, sometimes as a tourist, and as another local at any daily life situation you can imagine. When we talk about culture, we may refer to many aspects of the life in a place, so I will talk about some of the things I found more interesting or different between Mexico and Japan. I would say people, generally talking, is of a quiet character, usually polite and sometimes a little bit shy, but indeed that might be on the surface, because as in every other place, I found different tempered people. Anyway, from the moment I was picked up at the airport by head professor and some of the department members, I felt very welcomed and was the beginning to meet a lot of nice individuals along the way, and despite the fact I could not speak a word of Japanese and some people cannot speak English, we always found the way to communicate and feel comfortable when talking about anything. Moreover, I think smiles and kindness are examples of universal language that can be always used, need no translation, and represent a safely way for constructing good relations. As time went by, I became close to some people, we shared moments that truly made me feel part of it, and I think my stay would not have been the same without them. I learnt from them a bunch of things, ranging from simple as getting a card to use trains

to remarkable as sharing their vision about life topics when having a deep conversation. All in all, they made a difference in me.

While I think about daily life in Japan, I come up with a lot of ideas; convenience stores are a thing here, you can literally be surrounded by two or three wherever you are, and I cannot blame them, it is easy to get used to stopping by them to grab something to drink or bite, to get an umbrella if suddenly started to rain, to print a document or simply withdrawn money if you ran out of it, and the best part is they are open 24/7; it is not that we do not have in Mexico but in Japan you will find them in a much larger scale and filled with more options. There is an interesting fact about convenience stores and dentists in Japan, widely known by dental colleagues there; according to the Japan Dental Association and the Japan Franchise Association, there were 104,533 dentists and 54,501 convenience stores (55,695 in January 2020), respectively, as of December 2016. If we take this data, we can say that the number of dentists is 1.87 times more than the convenience stores, and at first impression and focusing just on the situation of dentists, this might sound a lot but if we put it in perspective comparing to Mexico we can realize that actually not; according to the National Institute of Statistics, Geography and Informatics (INEGI), the country had a total of 156,622 dentists in 2016, which means 1.4 times more than Japan. Also, it is important to take in account that both countries are similar in terms of population now, with around 126.5 million for Japan and 128.5 million for Mexico, based on the United Nations data.

In Mexico, I usually drive a car to move around, but when I came to Japan I found public transport to be very simple and efficient at the same time, and perhaps trains are the most reliable option to go everywhere, from short distances where one can use a local train to far places that can be reached in few hours using a bullet train. Other advantages include extremely punctual schedules, a bunch of options available to get from one point to another and payment cards that can be recharged in many spots.

As every other place or country, in Japan there are some particular words that have become very useful and popular at the same time. A few days after I started school I learnt, probably, the expression that became more useful and familiar to me: “*Otsukaresama*”. But do not think it is just another word, it involves a deep significance. Even though the literal meaning of “*Otsukaresama desu*”, in the present tense, or “*Otsukaresama deshita*”, in the past tense, would be “you are tired”, Japanese use it, mainly, as a way of saying “Good work”. Nevertheless, they also

use it as a greeting so you can hear it in the halls, when you walk in a restaurant, at the toilets, on the phone, between friends or family, when some task is done and even as a way of say "cheers", so if you come to Japan, you will surely hear it everywhere. All in all, we can better understand this expression as a hello, goodbye and thank you.

Focusing on my daily life as a student, I can point out some differences. In Mexico, it is very common that lectures or giving attention to patients start at 7:00 am, while in Japan it is usually at 9:00 am. From there, they would stop activities at 12:00 pm, so everybody can go for lunch. In Mexico we do not have a fixed time for everyone to get lunch, depending on the day and activities, we have some breaks between classes but not same for each person. Following that, we do not have a "school restaurant" where meals are served, instead just cafeterias where you can get a wide variety of foods, from a snack to a complete meal and normally available all day long. On the other hand, in Japan I got used to eating lunch at midday and it was pretty good to choose from 3 or 4 options of set meals every day, so it is easy to find something one likes. Time for lunch is typically one hour long and after that, people come back to their activities. In my case, duties were concerned to doing lab experiments, reading information related to my research, planning for next steps of the study, analyze results or write about it. Postgraduate students usually end clinical treatments at 5:00 pm but after that they work on other academic tasks, e.g. to attend some lecture or progress in some researching. The big difference I found was about the educational system for dentistry in both countries; Japanese dental education system leading to a dental degree is a 6-year program, and after that a 1-year mandatory postgraduate clinical training, highlighting that undergraduate students are not allowed to attend patients. Any other way, Mexican dental education system consists in a 5-year program at university and a 1-year clinical training known as "social service", which is not usually held at university, instead at government dependent clinics or hospitals, and after that students pursue a dental degree; also, Mexican undergraduate students start attending patients at second year. Next difference is about postgraduate courses; in Mexico you can either choose a 2 to 4-year specialization course related to a specific field, such as orthodontics, endodontics, periodontology, or any other, or a 2-year master's course related to researching, which not include clinical training, and after that enter to a 3 or 4-year PhD course. In Japan, there are no master's or specialization programs, instead a 4-year PhD course that includes

clinical training and researching in a specific field.

Contrasting Japanese and Mexican food

For me, food is not only the way one recharges energy for the body, but instead a form to discover new feelings, an occasion to understand better a culture, and a chance to meet new people or enjoy yourself while tasting something you like. As well, I strongly believe that relationships come closer over a dinner or some drinks, and this time was not the exception. While I was in Japan, and being completely honest, there was not a day when missing Mexican food, regardless, I love it and I am an enthusiast in promoting my country's food, I must accept I was very delightful while discovering new tastes and ingredients that are not common in western countries.

The first difference I noticed about food habits in Japan were the mealtimes; both countries may have the same meals by name, breakfast, lunch, and dinner, but they are different in times and kinds of foods consumed. Of course, foods eaten everywhere will depend on each person's likes, lifestyle, activities, and other circumstances, nevertheless, there are some common foods as described next. In Japan, breakfast takes place very early in the morning and it is very typical to find rice, miso soup, salmon, natto (fermented soybeans), some vegetables, tamagoyaki (a kind of rolled egg omelet), onigiris and green tea or coffee. Lunch is around 12:00 pm and several dishes are popular, e.g. donburi (rice bowls), ramen, gyudon (beef bowl), soba, tempura, udon, tonkatsu, curry rice and bento lunch boxes (single-portion meal that is usually composed of rice or noodles, meat or fish, and an assortment of pickled or cooked vegetables), among many more. For drinking most Japanese choose green tea (available usually for free), or bottled and canned beverages from vending machines as coffee, sodas, oolong tea, energized drinks, etc. Dinner might be the most important meal of the day for Japanese, it starts from around 6:00 pm and on and it ranges from the same dishes mentioned for lunch to other more elaborated as okonomiyaki, shabu-shabu, sushi, yakitori, gyozas and more (**Picture 2**). Places known as izakayas are very famous establishments to have dinner and drinks over a variety of small dishes to share, and most of them are just open for dinner. On the other side, in Mexico breakfast is taken around 9:00 am and there is not a typical dish but many options to choose from, such as chilaquiles (fried corn tortilla pieces simmered with salsa and topped with cheese, shredded chicken or eggs), enchiladas (similar to chilaquiles but tortillas are complete and rolled), quesadillas, molletes, tamales, guisado tacos (home-



Picture 2. A. Gourmet nigirizushi. B. Bonsai tree made of pastry, matcha and ice cream. C. Shoyu ramen. D. Okonomiyaki topped with mayonnaise.

style dishes on a soft tortilla), eggs (scrambled, fried, motuleños, etc.), tortas, pastries, fruit juices, milk or coffee and more. Lunch does not take place around noon as in Japan, instead typically from 2:00 to 4:00 pm and it is the main meal of the day for Mexicans. This meal may consist of several courses, including soup, salad, a main dish (guisado) and dessert, and accompanied by tortillas, salsa, and fruit flavored water. Also, there are many places called fondas that offer set menus that include a choice of soup (often vegetables, noodles, or cream soup), rice or spaghetti, a main dish, beans, dessert, tortillas, and fruit water. Dinner, typically, is a lighter meal around 8:00 or 9:00 pm prepared and eaten at home and consists of something simple as a quesadilla, a tortilla filled with lunch leftovers, a sandwich or a piece of sweet bread and coffee, milk or tea. Other differences are that in Japan all dishes in a meal are served in many separate plates and bowls at the same time and people eat them taking bites of each one almost randomly, while in Mexico food is served following a 3 or 4-course

menu and the main dish is accompanied with sides in the same plate. Despite the differences, I love the food from both countries and If I had to rank my Japanese favorite dishes, I would say soy sauce ramen, shabu-shabu, sushi, and curry rice!

As a coffee enthusiast, I discovered that there is a great culture for coffee in Japan and not just among grown-ups or certain age people but also for the young generation. Many options are available to get a good coffee, from vending machines where one can choose from a wide variety of cold, hot, black, latte, brewed, sugar/sugar free, different blends, etc. to coffee shops specialized in brewing methods, handcrafted beverages or cocktails based on coffee, so if you are a caffeine lover you will rejoice yourself in Japan.

Future interaction between Mexico and Japan

If we put Mexico and Japan in perspective, we will find many dissimilarities, due to a very different history and background, customs and traditions, and disparate

economy and society between the two countries, nevertheless, globalization allows today a better understanding and communication amongst nations and makes it easier to find links that bind us. I consider that for new generations these boundaries are easier to reduce, mainly because it does not matter where you are, information about everything is widely available, and this means that getting more knowledge about people living in areas different to ours, should result in being more empathic with the situations and even problems that are being faced by others and to find people with the same interests and likes. When I first came to Japan, I was not sure about what to expect from people and, fortunately, after some days I felt connected with some of them since we found many things in common, despite our different backgrounds and life stories. As a part of the young generation, I think relations between the two countries should be strengthened in such ways as increasing the agreements between universities to promote academic exchange programs, encourage cultural activities that may be conducted in more cities of both countries, and not just in central areas like Tokyo or Mexico City,

spread a contemporary vision of Japanese and Mexican culture through music, dance, gastronomy and tourism, and intensify the opportunities in commercial trade and investment.

Conclusion

There is no doubt that to build a more harmonious society in the world, it is necessary to strengthen the knowledge and respect between nations, creating closer relationships and promoting mutual understanding. On this matter, my exchange period in Japan enriched my personal and academic development, providing a different perspective on how to make things, to see the world, to solve problems and to face life in different environments. This challenging yet rewarding experience, made me with a broader sense of accomplishment, self-confidence and skills that push me to attain fresh goals. I hope soon, universities and institutions bring efforts together to increase the number of students and researchers to benefit from study abroad. Doors are there to be opened, it is up to you!

Correspondence to: dr.david.bautista@gmail.com

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)

ハス *Nelumbo nucifera* Gaertn. (スイレン科: Nymphaeaceae APG 体系: ハス科: Nelumbonaceae)

連絡先: 城西大学客員教授
shiratak@josai.ac.jp

梅雨も末期に差し掛かるとハス（蓮）の見頃を迎えます。ハスは、インド原産で東アジアからオーストラリア北部に分布する多年生水生植物で、7～8月、紅色～白色の花を咲かせ、花は早朝に咲きはじめ昼には閉じます。日本での古名は、「はちす」で花托の形状を蜂の巣に見立てたそうです。水芙蓉、不語仙、池見草などともよばれます。ハスの花（蓮華）は、日本では仏花として葬儀などに用いられますが、インド、スリランカ、ベトナムなどでは国花で、めでたい花として結婚式で飾られます。葉柄は地中の地下茎から伸び水面に葉（葉身）を出し（浮葉）、草高は約1m、葉柄には通気のための穴が通っていて水面よりも高く出



写真1 ハス（花）



写真2 スイレン（ヒツジグサ）（花）



写真3 ハス（若葉）

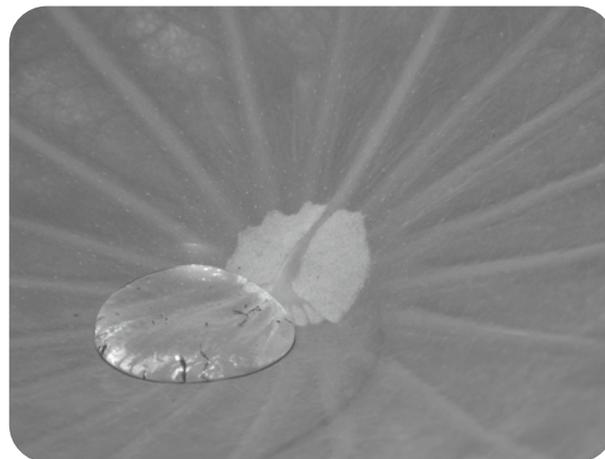


写真4 ハス（葉、ロータス効果）

る葉（空中葉，水上葉）もあります。葉身は円形で葉柄が中央につき、^{はっすいせい}撥水性がありサトイモの葉と同様に水玉ができます。ハスの果実の皮はとても厚く、長期間、土の中で発芽能力を保持することができ、1951年（昭和26年）3月、千葉市にある東京大学検見川厚生農場の落合遺跡で発掘され、大賀一郎博士が発芽させることに成功したハスの実は、放射性炭素年代測定により今から2000年前の弥生時代後期のものと推定され「大賀ハス」とよばれています。その他にも中尊寺金色堂須弥壇から発見され、800年ぶりに発芽に成功した「中尊寺ハス」や埼玉県行田市のゴミ焼却場建設予定地から出土した1400～3000年前のものとされる「行田蓮」もあります。

ハスの通例、内果皮のついた種子で、ときに胚を除いたものをレンニク（蓮肉 *Nelumbis Semen*）といい、強壯薬、婦人病薬とします。漢方では、心を養い、腎を益す。脾を補う薬能があるとして多夢、遺精、小便混濁、慢性の下痢、不正子宮出血などに滋養強壯、利尿、止瀉を目的として^{せいしんれん しん}清心蓮子飲、^{けいひとう}啓脾湯、^{さんれいびやくじゆつざん}参苓白朮散などに配剤されます。成分としては、ベンジルイソキノリンアルカロイドの *lotusine*, *higenamine* (demethylcoclaurine, *norcoclaurine*), *liensinine*, *isoliensinine*, *neferine* などが報告されていますが、*higenamine* はアンチドーピングの規制対象となっているため特にスポーツ選手などには注意が必要です。

地下茎はレンコン（蓮根）として食用になります。切ると断面に大小10個程度の穴が見え、「先を見通す」ことに通じて縁起が良いとされ、正月のおせち料理などに用いられます。その他、熊本県の郷土料理である辛子蓮根などもよく知られています。中国では、すり潰して得たデンプンを砂糖とともに熱湯で溶いて飲用するそうです。花托は堅そうですが簡単に破れ、若い花托も生食されます。「はすの実」とよばれる果実（種子）にもデンプンが豊富で生食されます。種子はドングリに似た形をしており、皮を剥いで得た白い実をその



写真5 ハス（未熟果実）



写真6 レンコン（蓮根）地下茎



写真7 カラシレンコン（辛子蓮根）



写真8 ハスの実で作った腕輪

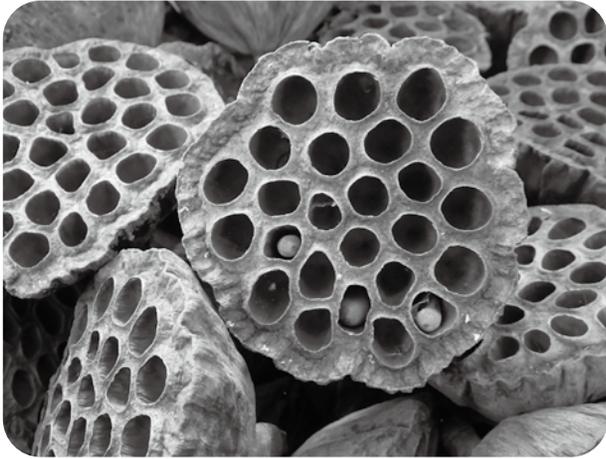


写真9 ハス（花托）



写真10 生薬：レンニク（蓮肉）内果皮を除いたもの

ままた、または甘納豆や汁粉などとしても食べられます。中国や台湾、香港、マカオでは餡として加工されたものを「蓮蓉餡」といい、これを月餅、最中、蓮蓉包などの菓子に使います。餡にする場合、苦味のある芯の部分は取り除くことが多く、取り除いた芯は「蓮芯茶」として飲まれ、ベトナムでは砂糖漬けやチュー（Chè）の具として食べられます。ハスは、地下茎、果実、種子だけでなく、各部位が利用されます。ベトナムでは葉身を茹でてサラダのような和え物に、中国の湖北省などでは、春から夏にかけて、間引かれた若茎（葉の芽）を炒め物・漬け物などにして食べます。日本では食べやすく切った葉柄を煮物の材料として用い、秋田県では、葉柄を用いた砂糖漬けが作られています。葉柄の表皮を細かく裂いて作る糸を「茄絲」、葉柄の内部から引き出した繊維で作る糸を「藕絲」とよび、どちらも布に織り上げて利用されます。ハスの各部位は、蓮子（成熟種子）、石蓮子（果実）、蓮実（果実）、荷葉（葉）、蓮鬚（雄しべ）、蓮子心（成熟種子の胚）、蓮房（花托）、藕節（根茎の節の部分）などとよばれ、それぞれ、別の生薬として扱われます。

ハスの花は、清らかさや聖性の象徴として称えられることが多く、「蓮は泥より出でて泥に染まらず」という日本人にも馴染み深い中国の成句が、その理由を端的に表しています。ところで、よく混同されるハス

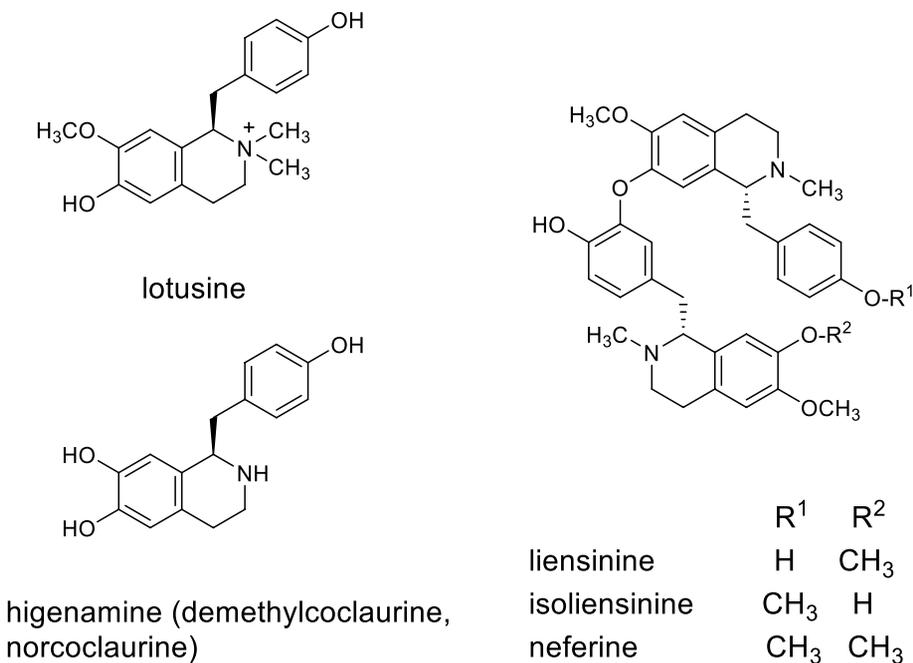


図1 成分の構造式

とスイレンですが、近年、被子植物の DNA 分岐系統の研究からスイレン科のグループは被子植物の主グループから早い時期に分岐しましたが、ハス科は被子植物の主グループに近いとされ、APG 分類体系ではヤマモガシ目に入れられ、ハスはハス科ハス属、スイレンはスイレン科スイレン属に属するとされています。日本に自生しているスイレンの仲間はヒツジグサ *Nymphaea tetragona* のみで、羊の刻（午後 2 時頃）に開花することから名づけられたとされています。根茎はどちらも水中にあり採取が困難ですが、表 1 を見れば、葉や花によってもハスとスイレンの見分けがつかますね。

表 1 ハスとスイレンの違い

	ハス（蓮）	スイレン（睡蓮）
葉（葉身）	<ul style="list-style-type: none"> ・撥水性あり，光沢なし ・円形で切れ込みなし 	<ul style="list-style-type: none"> ・撥水性なし，光沢あり ・円形で切れ込みあり
花	<ul style="list-style-type: none"> ・水面から高く出て咲く ・花後，花びらは水上で散る ・果托ができる 	<ul style="list-style-type: none"> ・水面に咲く ・花後，花は閉じて水中に沈む ・果托ができない
根（根茎）	<ul style="list-style-type: none"> ・地下茎が蓮根になる 	<ul style="list-style-type: none"> ・蓮根のような穴はなく，塊根である

ハスの葉（葉身）にはワックスのようなもので出来た非常に小さな無数の突起物があり、水が表面に広がらず、水滴のままコロコロと滑り落ちます。この高い撥水性のために、葉の表面に着いた泥や虫を絡めとって洗い流す効果のことをハスの英名 lotus に由来し、ロータス効果 lotus effect といいます。このロータス効果は私たちの身の回りの製品にも生かされています。



◆ デンマーク通信 ◆

Naoko Ryde Nishioka

デンマークのライ麦

デンマークといえばおいしいパンを想像する人が多いと思います。以前にもパンについて、いくつかの記事で紹介しましたが、今回はライ麦を中心に紹介したいと思います。

ライ麦パン、デンマーク語では Rugbrød と綴りますが、喉の奥に何か詰まったような R の発音で始まるこの言葉は、デンマーク人の食生活には欠かせないパンです。日本の食パンやフランスパンなど、小麦粉で作られたパンもちろんありますが、デンマーク人の家庭に日常的にあるのは、白いパンではなく、黒いライ麦パンではないでしょうか。ライ麦パンは、黒くて重くて硬く（普通のパンに比べると硬く、フワッという感じではない）、ライ麦粉を使って通常は、サワードウと呼ばれる酸味の強いパンの膨張剤を使って作られるパンで、シアの実や、ひまわりの種などを混ぜて作る四角いパンです。糖分や脂肪分がほとんどないため、ヘルシーな主食として親しまれています。通常はお昼ご飯によく食べるもので、お弁当には定番の食材です。また、お昼でなくても、簡単に食事を済ませる時や、小腹がすいた時などにはとても便利な食材です。一人暮らしや若者の生活にも最適な食材で、電子レンジなどがなくても常温で食べられ、腹持ちもよく、費用対効果も高い食材です。もちろんヘルシーであることが、この食材のキーポイントで多くの家庭に常備されています。

ライ麦パンは、様々な食材をトッピングして食べ合わせることができますが、一番庶民的なのは、豚のレバーのパテで、これもベジタリアンやビーガンの家庭でなければ、常備されている確率の大変高い食材です。レバーパテは、スーパーの量産品から、肉屋さんの手作り品まで、様々ですが、デンマークは豚の生産量が高いこともあり、手ごろな価格で手に入れることが可能です。

ライ麦パンは非常に一般的な食材ではあるものの、市場に出回るライ麦パンにはピンからキリまであります。家庭でパン作りをよくするデンマーク人も、ライ麦パンを日常的に手作りする人は少数派です。なぜなら、サワードウを使うことや、発酵やベーキングの過程に時間を要することがその背景にあるようです。というわけで、スーパーや、パン屋さんでライ麦パンを買うことが多いのですが、一つ（8センチくらいの高さで、



レバーのパテ、いろいろな種類があるが、Stryhn's はこちらではメジャーなリバパテ製造メーカー



ライ麦粉、小麦粉に比べると木目が荒く、茶色い粉が混ざっている



ライ麦パン、ヘルシーな食材としてデンマークの家庭には常備されていることが多い

20～30センチくらいの長さ)の価格が、スーパーだと、10クローネから20クローネ(150～350円)ほどで、パン屋さんに行くと、30クローネから40クローネ(500円～700円)ほどになります。スーパーで市販のものは、スライスされているものがほとんどですが、パン屋さんに行くと、買う時にその場でスライスしてくれることが多くあります。それは、家で一枚一枚をスライスしようとする時、結構力が入ります。ライ麦パンの種類はパンの種類と同様に豊富ですが、酸味が強いとやや日本人には馴染みがないかもしれませんので、酸味の弱いものを日常生活に取り入れ、デンマーク風のヘルシーなパン生活を実践してみるのもいいかもしれません。

さて、ライ麦は主にヨーロッパで栽培される食材で、ドイツやポーランド、デンマークなどで多く栽培されています。6月のこの季節になると、デンマークの田舎道にふとライ麦畑を目にすることも珍しくありません。ライ麦粉は、ライ麦パンを作る材料ですが、普通のパンにも少しライ麦粉を入れるとヘルシーなパンになるので、ライ麦パン以外のパン製造にも使われます。ライ麦粉もスーパーなどでは手軽に手に入るため、ライ麦はデンマーク人の食文化に広く親しまれている食材なのでしょう。



田舎道や林の散歩道を散歩しながら、ライ麦畑を垣間見ること



6月のこの時期に青々とするライ麦畑

「New Food Industry 電子版」のご案内

平素より『New Food Industry』をご愛読いただきまして、誠にありがとうございます。

弊誌は本年で第62巻、創刊号からの通巻数は6月号で736号を迎えました。昨今の、情報技術の分野は特に目覚ましい進歩を遂げており、皆様も日々実感しておられることと存じます。この度、本誌もその大きな潮流に乗りICTを有効活用し、『New Food Industry』の電子媒体を発行することにいたしました。

年間ご購読契約者様に「New Food Industry 電子版」をご提供いたします。弊誌ホームページ内の専用のサイトから、パソコンやスマートフォン、タブレットなどで、いつでもどこでも『New Food Industry』を読むことができるようになります。

紙媒体につきましても当面の間これまで通りお届けいたしますが、電子媒体へ移行することにより、所蔵場所の確保、破れや汚損などの不都合な面が解消されると期待しております。

また電子媒体は、労働環境の変革によるテレワーク下での利用にも最適であると考えます。

さらに、電子媒体の発行にあたる特典として過去10年間の『New Food Industry』無料閲覧もご用意いたしました。

ご利用いただく際には、弊誌からアクセスIDとパスワードをお送りいたしますので、ホームページ内のサイトを参考にお名前とご所属をメールでご連絡ください。書店様から年間購読をご契約いただいている皆様も同じ手順になります。

是非この機会に「New Food Industry 電子版」を積極的にご活用ください。

また、ご利用に際しましてご不便な点などございましたら、忌憚のないご意見を賜りたく存じます。

引き続き、今後も『New Food Industry』をご愛読いただきますよう、よろしくお願い申し上げます。

www.newfoodindustry.com

ニューフードインダストリー 第62巻 第7号

印刷 令和2年 6月20日
発行 令和2年 7月1日
発行人 渡邊 力
編集人 今西 和政
発行所 エヌエフアイ合同会社
〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302
TEL:042-312-0836(代表)
FAX:042-312-0845
振込先:三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814
多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817
ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク
定価 本体2,500円 +税 (送料120円)

e-mail: newfood@newfoodindustry.com