

ILSI JAPAN

2012

No.

108

目次

＜創立30周年特集＞

- ・機能性食品と独創
ILSI Japan 副理事長／日本大学教授 上野川 修一
- ・食品の安全性：がんとの絡み
中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター／LSI Japan 理事 福島 昭治
- ・ILSI Japan 創立 30 周年に寄せて
- ・30 年の歩み ―ILSI Japan の主な活動―
- ・30 周年記念 ILSI Japan 事業 講演録
東京大学寄付講座「機能性食品ゲノミクス」
＜栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証＞
 - I 開会の挨拶
栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証 (阿部 啓子)
 - II アンチエイジングと機能性食品因子
マイクロアレイ解析を用いたラット小腸におけるサラシア属植物エキスの免疫亢進機能の発見 (小田由里子)
柿果皮抽出物を投与した 2 型糖尿病 GK ラットの肝臓における
insulin signaling pathway 関連遺伝子の発現変化 (井土 良一)
マウスにおけるトマト摂取が肝臓の糖および脂質代謝に与える影響について (相澤 宏一)
(R)-(-)-リナロールのストレス抑制効果 (中村 明朗)
―拘束ストレスラットにおける遺伝子発現変動解析からの考証
 - III ミネラル摂取基準のゲノミクスによる考証
肝臓遺伝子発現解析から鉄摂取量安全性基準を予測する (亀井 飛鳥)
 - IV アンチエイジング研究の世界動向
抗加齢研究動向における中国の戦略 (傅 正偉)
カロリー制限によるメタボリズムとアンチエイジング (ロザリン・M・アンダーソン)

ILSI Japan 研究会・部会の研究関連トピックス

【炭水化物研究部会】

- 新しい血糖応答測定法を求めて―食品摂取による血糖値上昇の評価法― (木村 修一)
- 食品の血糖応答性簡易評価法 (GR 法) の開発 (熊井 英志)
- GR 法の実用化に向けて (中西由季子)

【食品機能性研究会】

- 栄養素および食品成分の脳機能に対する効果の評価法 ―行動薬理学的手法の有用性― (武田 弘志 / 辻 稔)

【バイオテクノロジー研究会】

- 高い健康ベネフィットを有するオメガ-3 脂肪酸を産生する
モンサント・カンパニーの遺伝子組換えダイズの食品利用に向けた進展 (リチャード・S・ウィルクス)

【食品安全研究会】

- 毒性学的懸念の閾値概念と食品添加物の安全性評価 (小西 陽一)
- 食品リスク評価の新しい潮流～曝露マージン (MOE) アプローチ (藤井 健吉)

【健康推進協力センター (CHP)】

- ILSI Japan CHP の社会貢献活動 (戸上 貴司)

・フラッシュ・レポート

- 第 6 回「栄養とエイジング」国際会議参加報告



特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構

International Life Sciences Institute Japan



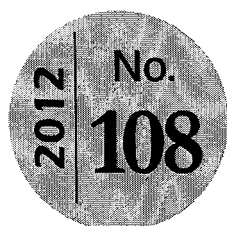
International Life Sciences Institute, ILSIは、1978年にアメリカで設立された非営利の団体です。

ILSIは、科学的な視点で、健康・栄養・安全・環境に関わる問題の解決および正しい理解を目指すとともに、今後発生する恐れのある問題を事前に予測して対応していくなど、活発な活動を行っています。現在、世界中の400 社以上の企業が会員となって、その活動を支えています。

多くの人々にとって重大な関心事であるこれらの問題の解決には、しっかりとした科学的アプローチが不可欠です。ILSIはこれらに関連する科学研究を行い、あるいは支援し、その成果を会合や出版物を通じて公表しています。そしてその活動の内容は世界の各方面から高く評価されています。

また、ILSIは、非政府機関(NGO) の一つとして、世界保健機関(WHO)とも密接な関係にあり、国連食糧農業機関(FAO)に対しては特別アドバイザーの立場にあります。アメリカ、ヨーロッパをはじめ各国で、国際協調を目指した政策を決定する際には、科学的データの提供者としても国際的に高い信頼を得ています。

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構(ILSI Japan)は、ILSIの日本支部として1981年に設立されました。ILSIの一員として世界的な活動の一翼を担うとともに、日本独自の問題にも積極的に取り組んでいます。



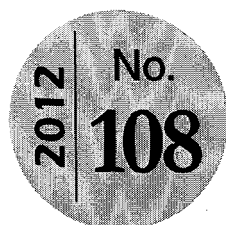
ILSI JAPAN

目次

<創立30周年特集>

機能性食品と独創……………	1
上野川 修一	
食品の安全性：がんとの絡み……………	5
福島 昭治	
ILSI Japan 創立 30 周年に寄せて……………	10
30 年の歩み —ILSI Japan の主な活動— ……	18
30 周年記念 ILSI Japan 事業 講演録	
■東京大学寄付講座「機能性食品ゲノミクス」	
<栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証>	
I 開会の挨拶	
栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証……………	26
阿部 啓子	
II アンチエイジングと機能性食品因子	
マイクロアレイ解析を用いたラット小腸におけるサラシア属植物エキスの	
免疫亢進機能の発見……………	27
小田 由里子	
柿果皮抽出物を投与した 2 型糖尿病 GK ラットの肝臓における	
insulin signaling pathway 関連遺伝子の発現変化……………	39
井土 良一	
マウスにおけるトマト摂取が肝臓の糖および脂質代謝に与える影響について …	42
相澤 宏一	
(R)-(-)- リナロールのストレス抑制効果	
—拘束ストレスラットにおける遺伝子発現変動解析からの考証……………	48
中村 明朗	

Ⅲ	ミネラル摂取基準のゲノミクスによる考証 肝臓遺伝子発現解析から鉄摂取量安全性基準を予測する……………	52
	亀井 飛鳥	
Ⅳ	アンチエイジング研究の世界動向 抗加齢研究動向における中国の戦略……………	58
	傅 正偉	
	カロリー制限によるメタボリズムとアンチエイジング……………	66
	ロザリン・M・アンダーソン	
■ ILSI Japan 研究会・部会の研究関連トピックス		
	【炭水化物研究部会】	
	新しい血糖応答測定法を求めて—食品摂取による血糖値上昇の評価法—……………	71
	木村 修一	
	食品の血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発……………	73
	熊井 英志	
	GR 法の実用化に向けて……………	82
	中西 由季子	
	【食品機能性研究会】	
	栄養素および食品成分の脳機能に対する効果の評価法 —行動薬理学的手法の有用性—……………	84
	武田 弘志／辻 稔	
	【バイオテクノロジー研究会】	
	高い健康ベネフィットを有するオメガ-3 脂肪酸を産生する モンサント・カンパニーの遺伝子組換えダイズの食品利用に向けた進展……………	94
	リチャード・S・ウィルクス	
	【食品安全研究会】	
	毒性学的懸念の閾値概念と食品添加物の安全性評価……………	100
	小西 陽一	
	食品リスク評価の新しい潮流～曝露マージン（MOE）アプローチ……………	107
	藤井 健吉	
	【健康推進協力センター（CHP）】	
	ILSI Japan CHP の社会貢献活動……………	114
	戸上 貴司	
	フラッシュ・リポート……………	120
	第 6 回「栄養とエイジング」国際会議参加報告	
	金子 哲夫	
会報		
I.	会員の異動……………	124
II.	ILSI Japan の主な動き……………	125
III.	ILSI カレンダー……………	126
IV.	発刊のお知らせ……………	127
V.	ILSI Japan 出版物……………	130



イルシー ILSI JAPAN

CONTENTS

< Special Issue >

Functional Foods and Creativity	1
SHUICHI KAMINOGAWA	
Food Safety: Cancer Prevention Measures	5
SYOJI FUKUSHIMA	
Celebrating Message for the 30th Anniversary of ILSI Japan	10
ILSI Japan Chronicle	18
Proceedings of Events for the 30th Anniversary Year	
■ The University of Tokyo, ILSI Japan Endowed Chair of Functional Food Science and Nutrigenomics (Nutrition and Anti-aging – Genomic Validation)	
I Opening Remarks	
Nutrition and Anti-Aging—Science Investigation by Genomics	26
KEIKO ABE	
II Anti-Aging and Functional Food Factors	
Biochemical Investigation and Gene Expression Analysis of the Immunostimulatory Functions of an Edible Salacia Extract in Rat Small Intestine	27
YURIKO ODA	
Expression Change of the Insulin Signaling Pathway Related Genes in Liver of Type 2 Diabetic GK Rats by Administration of Persimmon Peel Extract	39
RYOICHI IZUCHI	
Administration of Tomato Modifies Hepatic Glucose and Lipid Metabolism in Mice ..	42
KOICHI AIZAWA	
Stress Regulation by Inhalation of (R)-(-)-Linalool as Seen from Gene Expression Analysis	48
AKIO NAKAMURA	

III	Recommended Mineral Intake, Genomics and the Current Evidence Hepatic Gene Expression Analyses for Assessment of a Reference Iron Intake	52
	ASUKA KAMEI	
IV	Anti-Aging, Worldwide Research Trends Chinese Strategy on Anti-aging Research Trends	58
	ZHENGWEI FU	
	Metabolism and Anti-aging by Caloric Restriction	66
	ROZALYN M. ANDERSON	
■	ILSI Japan Research Committee Topics	
	[Carbohydrates Task Force]	
	Purpose of Creating the New Index, "Glycemic Release Rate"	71
	SHUICHI KIMURA	
	<i>In vitro</i> Measurement of Glycemic Response of Foods and Meals Based on Glucose Releasing Rate (GR)	73
	HIDESHI KUMAI	
	Carbohydrates Task Force toward Practical Application of the GR Method	82
	YUKIKO NAKANISHI	
	[Food Functionalities Research Committee]	
	Evaluation Method of the Effect of Nutrition and Food Composition on Brain Function — Utility of Behavioral and Pharmacological Technique —	84
	HIROSHI TAKEDA/MINORU TSUJI	
	[Biotechnology Research Committee]	
	Progress towards the Use of Monsanto's Healthy Omega-3 Fatty Acid Producing Genetically Modified Soy as a Food	94
	RICHARD S. WILKES	
	[Food Safety Research Committee]	
	Threshold of Toxicological Concern (TTC) Concept and Safety Assessment of Food Additives	100
	YOICHI KONISHI	
	What Is the MOE Approach? —New Risk Assessment Tool for Genotoxic Carcinogen in Food	107
	KENKICHI FUJII	
	[Center for Health Promotion, CHP]	
	ILSI Japan CHP Activities to Benefit Society	114
	TAKASHI TOGAMI	
	Flash Report	
	Brief Report on the 6th International Conference "Nutrition and Aging" <Advanced Aging and Wellness-From Food Supply to Dietary Habits>	120
	TETSUO KANEKO	
	From ILSI Japan	
	I. Member Changes	124
	II. Record of ILSI Japan Activities	125
	III. ILSI Calendar	126
	IV. ILSI Japan's New Publications	127
	V. ILSI Japan Publications	130

機能性食品と独創

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) 副理事長
日本大学 教授／東京大学 名誉教授

上野川 修一



要 旨

機能性食品というコンセプトは日本で生まれたものである。この機能性と関連して食と健康について提唱された諸説について紹介し、これらと比較した場合の機能性食品の独創的なところについて述べる。また、これに加えて機能性の評価法、そして安全性について、機能性食品独自の方法の確立の必要性等について最近筆者の感じていることについて述べたい。

<Summary>

The concept of functional food originated in Japan. This article introduces various theories proposed on food and health in association with the functionality of functional food and describes its creativity compared to these theories. In addition, the authors wish to present their recent ideas on assessment methods for the functionality, its safety, a need to establish assessment methods specific to functional food, etc.

1. はじめに

わたくしはすでに本誌 92 号 (2008 年) に「機能性食品および特定保健用食品 私見」を書いている。今回は、その時、少し言い残したことを中心に述べさせていただきたい。

いうまでもなく機能性食品の誕生は 1984 年であり、そして、それを受けて特定保健用食品が誕生している。

わが国においても、そして国際的にも、多くの人々に食と健康の問題に目を向けさせたものとして「機能性食品」と「特定保健用食品」の果たした役割を忘れてはならない。そして、現在も食と健康の問題について語ると

き、わが国においてはこの二つの「食品」を避けて通ることはできないし、また未来においても同様なのは勿論、「食と健康」の科学におけるその業績はさらに一層光輝くことは間違いないと確信する。

2. 機能性食品について

機能性食品というコンセプトが生まれる以前は、「食」の働きは、細胞の素材の構築原材料、エネルギー源、そしてビタミンによる生体調節作用と考えられていた。しかし、「食」の働きはこれだけでは十分に説明できない

Functional Foods and Creativity

SHUICHI KAMINO GAWA, Ph.D.
Professor, Nihon University
Professor Emeritus, The University of Tokyo
Vice President, ILSI Japan

との問題提起がなされた。そして、これに応えるかのよう
に、生命科学の研究法の進展によってからだの健康と
関係する多くの新しい食品成分が発見された。比較的に
よく知られていたものとして、乳酸菌、食物繊維、オリ
ゴ糖、そしてポリフェノールなどの抗酸化物質が挙げら
れる。

乳酸菌については古くからその健康への働きは知られ
ていた。食物繊維はノンカロリーの無作用の成分とされ
ていたのが、新しい作用が知られるようになった。さら
に、多くの疫学調査等により、食物とがんの予防との関
係も広く明らかになった。また、抗酸化作用をもつ成分
群のからだに対するさまざまな作用も発見された。

さらに、これらの機能をもった食品成分群について
は、成分の同定と同時に作用対象の器官も免疫系、内分
泌系、消化系、循環系と明確となった。そして、その作
用機序も分子細胞レベルで明らかとなった。

現在ではこれらの作用のからだの健康に対する影響、
すなわち臨床医学的な意義が明らかとなり、多くの成分
でその健康に対する有用性が科学的根拠を得ている。そ
して、今、このようにして明らかとなった有効な作用を
有する食品機能成分の種類はかなりの数にのぼる。

3. 機能性食品以前と以後

機能性食品以前そして以後に「摂取する特定食物の種
類と量そして健康には密接な関係のあること」を主張し
た考えが多く提案されている。ここではそれを振り返っ
てみたい。これらの考えと機能性食品を比較することで、
機能性食品の独創性を明らかにしたいからである。まず
これら諸説をあげてみたい。いずれも有名なものである。

(1) メチニコフとヨーグルト

100 年以前ごろからよく知られたものとしてはメチ
ニコフのヨーグルト長寿説がある。ノーベル賞受賞者で免
疫学者であるイリヤ・イリイチ・メチニコフはブルガリ
アに長寿者が多いのに驚き、その理由はヨーグルトにあ
ると考え、その主張をヨーロッパ中に広めた。その結果、
このヨーグルトはヨーロッパだけではなく、その後全世
界に広がり人類の共通の食となり、また最近その有効性
についての研究も極めて多く、また、その多様な有効性
は科学的に証明されている。

(2) ライナス・ポーリングとビタミンC

ライナス・ポーリングは化学賞と平和賞の二度のノー
ベル賞を受賞している科学者である。このポーリングが
人類は常にビタミンC不足であり、もっと大量にビタミ
ンCを摂らなければならないと自著で発表した。ノーベ
ル賞受賞者の提唱だけに世界中に流行が広まった。その
後、彼の主張は沈静化していった。しかし、ビタミンC
のからだに対するはたらきについては現在も研究は続い
ている。

(3) デザイナーフーズ

1990 年米国国立がん研究所、がん予防に有効な植物
性食品 40 種類あまりを発表した。多くの疫学データを
解析し、がん予防に効果の高い食品を頂点にして、ピラ
ミッド型にまとめたものである。ここに記載されている
食品群はわたくしたちの身の廻りにあるもので、いずれ
も簡単に手に入れることのできるものばかりが挙げられ
ているのが大きな特徴である。

植物性食品が中心なので、植物中に含まれているポリ
フェノールその他の抗酸化作用、免疫調節作用をもった
物質が中心で、これが抗がん作用をもつと推定されてい
る。

(4) 長寿遺伝子

最近では、長寿遺伝子としてサーチュインが注目を浴
びている。このサーチュイン遺伝子が発現したものはジ
アセチラーゼという酵素である。この酵素の作用で寿命
が伸びるという。

そしてこのサーチュイン遺伝子が活性化するにはカロ
リー制限が必要であり、70%のカロリー制限によって長
寿が得られるというトピックスが評判になった。さらに
このサーチュインの活性化はブドウの種皮などに含まれ
るレスベラトロールによっても可能であるといわれてい
る。このレスベラトロールはポリフェノールの一種であ
る。

(5) 食品ピラミッド、食事バランスガイド

以上に述べた考えは特定の食品成分が機能をもつとい
うものである。これに対して食品や栄養のとり方と健康
についてまとめたものが提出されている。

外国のものでは 2002 年の WHO/FAO の食品ピラミ
ッド、わが国では 2005 年の厚生労働省と農林水産省の食

事バランスガイドなどがよく知られている。

これらはいずれもそれぞれの国などで健康な食生活を送るために毎日摂取する食品の量の目安を示したものである。

いずれもよく見ると食材をいかにバランスよくとるかについての考えを述べたものである。

(6) バーカー仮説

また少し毛色が変わったものとしては、バーカー仮説が話題となった。

これは胎生期から乳幼児期までの栄養状態が成人期から老年期における生活習慣病の発症リスクに影響を与えるという考えである。

現在もその内容については検討が続いている状態であるが、極めて早い時期に栄養、食品がからだの健康状態にどの位影響を与えているかということや、早い時期から栄養への対策の必要性を述べている点が興味深い。

4. 機能性食品と独創

これまで述べてきたように、食と健康についての考え方には二つの流れがある。メチニコフのヨーグルト、ポーリングのビタミンC、デザイナーフーズ、長寿遺伝子活性化食品など、いわゆるある特定の食品成分が単独で、あるいは複合してからだの生理機能を活性化するのである。

一方、からだを健康に維持するために必要な食品成分を提示したものとして先に述べたように食品ピラミッド、食事バランスガイドなどがある。

前者は特定の食品成分のからだに対する作用を明らかにしたうえで、その有効性を示したものである。

また後者はからだを維持するのに必要な成分をこれまでの数々の研究結果を基盤にして決めたものである。特定の成分というより、からだに必要な成分バランスを示したものである。

わたくしは食品のからだに対する役割については特定な作用とバランスの二つの方向を同時に考慮しなければならないと思っている。それでこそ食品は食品であり得るのである。

わたくしはこの二つの方向を合わせ持ち、これまでの食品の概念を超えた新しいタイプの食品こそが機能性食

品であると考えている。

そして機能性食品はもう一つ重要な側面があると思っている。すなわち、わたくしは機能性食品は先端的生命科学すなわち分子細胞レベルでの研究によって食品成分のからだに対する作用の解明において大きな成果をあげたが、それだけでなく、その先に「なぜ食べるのか」「食べることはわたくしたちの生活や文化にどのような影響を与えるのか」などの問題、すなわち「食のもつ意味」を考えるキッカケを与えたのである（少なくとも私には）。すなわち食の哲学ともいえるべき分野への橋渡しをしつつあるのである。

そして、このことこそが「機能性食品」の独創的なところであると考えている。

5. 食品機能の評価について

機能性食品であるために必須の要件は、その機能が科学的に実証されることである。ところが、機能性食品の機能の評価については、その誕生の時から常にその方法について議論され続けている。

たとえば、食品は原則として、いわゆる食品の栄養、感覚、生体調節といった働きをもっていること。食品の機能はしたがってこれらの機能が相乗的に働きあって有効となる場合が多い。また、からだの働きのうち恒常性の維持には免疫・神経・内分泌系が協調し合って機能している。

したがって、以上のように複雑なからだの働きに作用することから、食品の働きをより正確に評価する方法が求められ続けてきた。そして、その評価法の確立をめぐる多くの議論があったようにも思われる。

たとえば、食品と医薬品の評価方法が常に比較されてきた。当然のことながら、医薬品の評価はあくまで病者に対していかに効果的であるかを基準に行なわれている。たとえば、医薬品の場合は生化学的実験、動物実験、そして臨床試験を経て有効性と安全性が確認されている。

これに対して機能性食品はからだの維持に関与すると同時に、その使用の対象はある特定の病気になりやすいとされた人々である。ここでも、生化学的試験、動物実験、臨床実験も行なわれている。

しかし、医薬品と機能性食品の利用の目的は異なって

おり、たしかに一部、評価の方法も共通の部分もあるが、独自に考えなければならない部分も多い。

特に、機能性食品はわたくしたちが生きるためのからだの形成、エネルギーの生産を行ない、さらにはからだの調節も行なわなければならないのだから。評価も食品は生命を健全に保つものという視点から総合的に行なわれなければならないのである。

今も、この機能性食品の機能評価について、多くの新しいものを対象に絶え間なく研究が続けられている。わたくしは、このような幅広い研究によって機能性食品独自の体系的な評価法が完成すると確信している。

6. 機能性食品の安全性について

まず機能性食品には有益な作用があると同時に安全でなければならない。この機能性食品の安全性を考える場合、国の「特定保健用食品の安全性についての基本的な考え方」が参考となる。

そこでの安全性のチェックは a) 食経験、b) *in vitro* および動物を用いた *in vivo* 試験、c) ヒト試験 がその 3 本柱である。

これに基いて特定保健用食品の安全性の審査が行なわれ、それをパスしたものが安全とされている。

機能性食品群には特定保健用食品となっていないものも多いが、わたくしはこれらにも特定保健用食品と同様の安全性が確保されるべきであると思っている。

また、特定保健用食品はその原材料、製造過程、製品の三項目それぞれについてチェックされているはずであるから、上記 (a) (b) (c) について機能性食品についても、この三項目がチェックされるべきであろうと考えている。しかし、この三項目のチェックをどの様に能率的にシステムティックに行なうかについては議論のあるところでもある。機能性食品の安全性チェックは医薬品とは異なり、食品独自の方法があることが望ましいし、それをどのように作りあげるかについては多くの人のコンセンサスが必要となるということである。

なにしろ機能性食品は基本的にからだを健康に保つためのものであり、安全であることが前提のものだからである。

7. おわりに

今回は前回述べさせていただいたことに加えて、わたくしが機能性食品について抱いていることを思いつくまま述べさせていただいた。したがって、一貫性を欠くのはいたしかたなく御寛容いただきたい。

ここまで述べてきたように機能性食品が多くの人々の興味を引くようになったことは非常に好ましいことと考えている。

しかし、この機能性食品がわたくしたちの健康にどのような形で役立ってきたのかについて科学的そして特に統計学的にそれを検証する研究や調査を徹底的に進めなければならないとも感じる。わたくし自身、このことについて解答を求められることもしばしばある。確かに、このような調査、研究は今まで誰も行なわなかった、あるいはやろうとしてもできなかった難しい仕事ではあると思う。しかしながら、機能性食品の社会に対する影響の大きさを考えた場合、今こそこれを始めなければならないのではなかろうかと思っている。

略歴

上野川 修一(かみのがわ しゅういち)農学博士

1966 年 東京大学農学部 卒業
1968 年 東京大学農学部助手
1976 年 東京大学農学部助教授
1989 年 東京大学教授
1994 年 東京大学生物生産工学センター長
1997 年 東京大学生物資源環境センター長
1999 年 東京大学農学生命科学図書館長
2003 年 日本大学教授、東京大学名誉教授
2006 年 特定非営利活動法人国際生命科学研究機構副理事長

[受章] 紫綬褒章 (2008 年)

国際酪農連盟賞 (2006 年)

日本農芸化学会賞 (2000 年)

日本畜産学会賞 (1979 年)

現在、日本食品免疫学会会長、(財)日本ビフィズス菌センター理事長、

これまで、(社)日本農芸化学会会長、内閣府食品安全委員会専門調査会座長などを歴任

食品の安全性：がんとの絡み

中央労働災害防止協会
日本バイオアッセイ研究センター
特定非営利活動法人国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) 理事

福島 昭治



要 旨

食品は生命の維持と健康の向上にとって必須であるものの、一方では疾病をもたらす。そこで本稿では食品とがんについて、食品を摂食する側と食品を管理する側におけるがんリスクに関する諸課題を簡単に述べる。個人個人ががんを予防することを目的に世界がん研究基金とアメリカがん研究協会は食品とがん予防に関する 10 項目を挙げている。最近では特にさまざまな疾患の起因となる肥満対策が日本でも求められる。食品、食品に関連する物質のリスク評価に必要な発がん評価にあたって、新しい手法が現在、模索されている。それらは *in silico* 発がん性スクリーニング、トキシコゲノミックス手法を用いた発がん性スクリーニング法、*in vivo* 発がん試験代替法の活用などである。また、現行の発がんリスク評価・管理の方策の根底となっている発がん無閾値説に対する再検討が必要で、「閾値あり」の立場に立って評価・管理するのが科学的である。特に、食品に含まれる不純物や汚染物への対応が必要である。さらに、リスク評価に携わる専門家の育成が急務であり、この方面での研究の推進とそれを積極的にサポートする施策が求められる。

<Summary>

Food is essential for life and in promoting good health. However, in certain cases consumption of certain foods or excessive amounts of food can result in disease. In this paper, several issues on food and cancer prevention are discussed. The World Cancer Research Fund and The American Institute for Cancer Research have listed 10 items related to food safety and cancer prevention. Recently overweight has been one of the central issues of discussion and interest, even in Japan. Measures to reduce overweight should be considered in order to help reduce the chances of people developing cancer. In the area of cancer risk assessment, as it relates to the management of food and food-related substances, new methods are currently under development to assist in more accurate risk assessment. These include *in silico* screening methods, toxicogenomic methods, and *in vivo* alternative methods for carcinogenicity. Cancer risk assessment and management based on the non-linear theory of the genotoxic carcinogenicity should be reconsidered, since there is new evidence in this area. In addition, major efforts are necessary to train the specialists who will be involved in cancer risk assessment.

1. はじめに

三欲の一つの食欲を満たす食品は言うまでもなく生体の成長と生命の維持にとって必須なものである。さらに最近では生命の維持のみならず、その増強をめざす機能性食品の発展が目立つ。一方では美食、過食による肥満、さらにはそれによる疾病の増加が社会問題となっていて、それらに対する予防が人々の大きな関心事となっていて。そして、これらは人、個人個人が意識するにしろ、しないにしろ、個々の持つ嗜好、さらに個々の科学的根拠に基づいた責任に帰す事象の上に成り立っている。食品の安全性確保の面から見ると、それはいずれも与えられた側における取捨選択の結果である。一方、食品の安全性についての責任として、食品を与える側には食品を作り出し、販売する企業や食品の安全性を確保する行政府がある。昨今、これらには食品の安全性についての厳しい責任が求められ、それにあたってのリスク評価、リスク管理、リスクコミュニケーションに対する具体的な対応が求められる。

現在では従来の自然な形の食品のみならず、加工を加えた種々の食品を摂取する機会が非常に多い。ヒトはそれを楽しんで食し、人生を享受している。物には二面性があり、このようなベネフィットとは裏腹に食品にもリスクがあり、種々の疾病の発症原因にもなる。例えば、古くはイギリスのドール卿が指摘しているように、がんの原因の約3分の1は食品に求められる。

本稿では食品、食品に関連する化学物質等の発がんリスクに係わる事項、特に規制にあたってのリスク評価に求められる事項の種々の課題について私見を交え、述べる。

2. 生活とがん：個人個人によるリスク軽減

がんの予防に焦点をあてた非利益団体である世界がん研究基金とアメリカがん研究協会は、1997年にがん予防への公衆衛生目標と個人への助言、いわゆるがん予防の15項目を発表した。さらに、2007年にそれを改訂し、国際的視点に立って食品とがん予防に関する10項目を発表した。その内容をみるとがんリスク要因として肥満、高カロリー、アルコール、肉、塩辛い食品等をあげ、予防因子として野菜、果物、穀類、豆類をあげてい

る。日本においても国立がんセンターから、日本におけるがん予防に関する研究成果を基にして、がんを防ぐための12か条が発表されている。

特に、最近では日本でも栄養過多とともに肥満が増えていることが問題となっていて。肥満がさまざまな疾病をもたらすのは周知の事実である。糖尿病、高血圧症、高脂血症、動脈硬化症、さらにはがんの発生を促進する。肥満とがんの関係では男性において大腸がんや前立腺がんの増加が、女性では乳がんや子宮体部がんの発生増加が疫学的にはっきりしている。さらに、動物実験で、食事制限ががんの発生を抑制することが分かっており、食品の氾濫している今日、毎日の食事の質を考え、さらに量を減らす地道な努力ががんリスクを低下させる基本となる。

3. 新規化学物質のリスク評価における新しい動き

アメリカのNational Research Council (NRC、米国学術研究会議)は、Environmental Protection Agency (EPA、環境保護庁)とNational Institute of Environmental Health Science (NIEHS、国立環境健康科学研究所)の協力を得て、リスク評価に必要な毒性データに関する新しい方向性を打ち出している。議論の前提として、毒性評価に必要な試験に費やす費用と時間を短縮すること、動物愛護の観点から動物数を減らすことなどがある。NRCによって提案、公表された内容の骨組みは、①化学物質のもつ特性、②毒性の発現様式、③毒性標的を絞った試験、④用量反応とヒト外挿モデルで、さらにばく露データを包括する構成からなっている。毒性評価にあたり、*in silico*手法、ハイスループット試験などの新手法が化学物質の特性と毒性の種類の関連を予測するのに極めて有効であり、また、ゲノム機能解析の手法を取り入れた新しい評価法を提案している(表1)。さらに、将来的には動物試験を実施することなく、ヒトの細胞または株細胞を用いて毒性評価することが可能になるだろうとしている。しかし、動物試験なしで化学物質の発がん性を検証することが可能かどうかの結論を出すには長い年月を必要とするであろう。

表1 毒性試験の新しい評価

Table 1 Toxicity testing tools and their application in risk assessment

ハイスループットスクリーン
幹細胞バイオロジー
ゲノム機能解析
バイオインフォマティクス
システムバイオロジー
コンピューターシステムバイオロジー
生理学的薬物動態モデル
構造活性相関 (QSAR)
バイオマーカー

M.E. Anderson, D. Krewski
Toxicological Sciences 107, 324-330, 2009
より引用、改変

4. 新規発がん性予測モデル

新規開発化学物質の毒性試験に既存の *in vivo* 試験や *in vitro* 試験とは替わった新しい手法が模索されている。コンピュータシステムを導入し毒性を予測する方法、すなわち *in silico* 予測法や、トキシコゲノミックス技術を応用したハイスループット試験といった毒性試験法の開発などである。発がん性検索法に関しても、より低コストに、より短期間に、また、動物愛護を考慮し、さらには分子生物学とコンピュータ技術の進歩による新しい手法が開発されつつある。

(1) *in silico* 発がん性スクリーニング

環境中に存在する既存の化学物質や新規化学物質は数限りなく多い。それらをすべて従来の長期発がん性試験で発がん性の有無を検討することは不可能である。そこで、脚光を浴びているのは *in silico* スクリーニング法で、化学物質の化学構造などの情報、それに対応する遺伝毒性の情報をコンピュータに入力し、コンピュータ上で実験を行い、化学物質の発がん性を予測する手法である。食品添加物等の目的で開発される新規化学物質の場合において、このスクリーニングを用いて発がん性予測ができれば、開発すべき新規化学物質の開発が順調に進み、開発に要する経費の節減ならびに短期化に大いに貢献するであろう。既に発がん性や遺伝毒性に関するデータを収載し、発がんスクリーニングとして活用されているものがある。

(2) トキシコゲノミックス手法による発がん性スクリーニング

化学物質をラットあるいはマウスに短期間投与し、生体内で起こる変化を遺伝子レベルで検索することにより、その毒性を予測しようというトキシコゲノミックス手法が検討されてきている。その一つとして、cDNA マイクロアレイを用いるシステムがある。発がん性予測に関しては、国際的にはアメリカのEPAのグループによるシステム、国内では独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (New Energy and Industrial Technology Development Organization; NEDO) の「高精度、簡易有害性 (ハザード) 評価システム開発」などによる発がん性予測が開発され、既に実用化されている。またプロテオミクスによるタンパク質発現を測定し、発がん性評価に利用するシステムの開発も模索されている。

将来的にはヒトの細胞に被験化学物質をばく露させ、発現する遺伝子変動を解析することによって、直接的にヒトの発がん性を評価することが可能になることが期待されている。

(3) 長期発がん性試験に代わる代替発がん性試験

医薬品に関する日、米、EU 三極医薬品ハーモナイゼーション国際会議の合意に基づき、日本においても従来のげっ歯類を用いた長期発がん性試験の2種のうち1種は、代替発がん性試験 (中期発がん性試験) を採用してもよいことが決定され、今日に至っている。中期発がん性試験としては、マウス長期発がん性試験の代替である遺伝子改変マウスの *rasH2* マウスと *p53* ノックアウトマウス、およびラットのそれである2段階発がんモデルをベースとする肝中期発がん性試験法 (伊東法) と多臓器中期発がん性試験法が推奨されている。

現実的には、ラットにおける長期発がん性データが重要視され、マウスの長期発がん性試験の代わりに遺伝子改変マウスのデータを使用する方向にある。とはいえ、しばらくは従来の2種の長期発がん性試験が相変わらず重用されてきている。最近、代替法による新規化学物質の発がん性評価結果が規制当局で認められた。今後、この方向性がより明確化されることが期待される。肝中期発がん性試験法ならびに多臓器中期発がん試験法では、ラットを用いている。したがって、マウスを用いた長期発がん性試験が実施される場合には、これらの方法が代

替法として有用である。

最近公表された「添加物に関する食品健康影響評価指針」には、長期発がん性試験の代替としての中期発がん性試験が触れられていない。今後の課題であるが、一刻も早くその方向性の打ち出されることが望まれる。

5. 発がん物質の閾値

化学物質の発がん性検証のための発がん性試験は一般にヒトの暴露量に比較すると極めて高い用量域の用量を用いて実施され、ヒトの外挿にあたってはS字状で表現される発がん曲線を低用量域へ延ばし、判断される。そして発がんリスク評価の原則として、遺伝子に損傷を与えるような発がん物質はゼロにたどる反応曲線である、すなわち閾値がないと理解されている。それは、低用量の発がん性を実験的に証明するのは困難であり、理論的に発がん物質はDNAに不可逆的変化を起こすからであるという理由による。すなわち閾値がないとして、発がんリスク評価、リスク管理されてきている。一方、発がん物質のヒトへのリスク評価にあたって、高用量域の結果をゼロにたどる曲線で外挿してよいかどうかはいつも問題となってきた。“遺伝毒性発がん物質に閾値がない（無閾値論）”ということはどんなに微量であってもヒトに対してそれは、影響を与えるということを意味する。したがってこのことが正しいかどうかを科学的に検証することが発がんリスク評価にあたって極めて重要な課題である。私どもはこの点を解決すべく、多くの実験を行い、遺伝毒性発がん物質には閾値、少なくとも実際的な閾値があることを証明した。食品には汚染物や不純物として、微量の遺伝毒性発がん物質が含まれている。それをリスク評価、リスク管理するにあたっては今後、“閾値あり”の立場に立って、対応するのが科学的である。

6. 専門家の育成

リスク評価に携わる専門家をどのように育てたらいいだろうか。また、現実にそのような専門家が十分に育っているだろうか。まず、発がん性の検索に携わる人を考えてみたい。従来の長期発がん性試験における発がん性の判定の中心は、病理組織学的検索にある。げっ歯類を

用いる発がん性代替法においても同様である。したがって、検策にあたり病理診断能力のある毒性病理学の専門家が要求される。日本毒性病理学会では、毒性病理学に対する知識と診断能力を試験によって認定する毒性病理学専門家制度を設けている。それによって、毒性病理診断の質を確保している。しかし、現在の認定制度は、毒性病理全般についての能力を問うものであって、発がんに関する専門知識と診断能力に特化したものではない。研究者、自らが診断能力の質の向上に努力するとともに日本毒性病理学会としてもその対策に取り組む必要が、近い将来、求められるであろう。質の確保の保証として、現在の毒性病理学専門家の資格に、さらに腫瘍病理学専門家に特化した認定制度を模索することになる。

さらに、分子生物学とコンピュータ学を応用した発がん性予測モデルの開発が進むことは間違いない。それを理解し、毒性病理専門家として十分に対応できる能力と学問的素養をつけることが求められる。

それでは毒性評価をベースにし、リスク評価に携わる人はどうであろうか。毒性病理でいえば単に診断能力が長けているだけでは駄目で、さらに動物データからヒトで何が起こるかを判断できる能力を培わなければならない。残念ながらこの点に焦点をあてた教育が日本ではほとんどなされていない。しかももっと大事なことはその能力を引き出すための研究分野が衰退していることである。リスク評価の体制を維持、増強するためには科学的な評価ができるよう、この方面の研究を応援する必要がある。国としてもこの点を十分に考え、将来、憂いのない評価体制が組めるよう、今からしっかりとした対応をすることが望まれる。

7. おわりに

リスク評価に求められる発がん性評価をするための発がん性試験が本格的に導入されて、久しい。この間の反省点として、ヒトへの外挿にあたってのげっ歯類、特にマウスの結果の解釈に疑念が生じてきていることが挙げられる。その結果、より効率よく、また、より科学的に発がん性を理解することの重要性が叫ばれている。「より科学的なリスク評価をすればするほど、ベネフィットが高まる」という概念を導入し、発がん性評価をすることが大事である。

ところで、NRC の 21 世紀におけるビジョンで打ち出されているハイスループット試験や *in silico* 手法が発がん性検索の面で、動物種差、ヒトへの外挿、動物愛護等の面から、さらに積極的に検討されるであろう。将来は、*in vitro* で評価が十分であろうとの可能性を打ち出している。しかし、筆者は、*in vitro* 手法でもっての発がん性検索法の可能性を必ずしも否定するものではないが、化学物質の発がん検索はいつの時代も *in vivo* 試験が王道であると理解している。生体は臓器個々の相互関係の上に成り立ち、しかも、臓器は実質と間質という 2 系統で構成されており、したがって、“疾病には座がある。”からである。ただし、これまで長々と続けられてきた 2 種の動物を用いる発がん性試験は続けるべきではなく、一刻も早く脱却すべきであるのは当然である。

安全は、科学的に量的ならびに質的なリスク評価をすることにより必ず得られる。しかし、安心は白か黒かの二者択一で、定性的判断による自己認識を基盤とする。安全と安心という異なった尺度を一致させることが重要で、リスクコミュニケーションがそれに課す役割は極めて大きい。リスクコミュニケーションの難しさがしばしば指摘されている。安心は信頼の上に成り立つ。したがって「安全と安心」というよりも「安全と信頼」というほうがリスクコミュニケーションにとって適切かもしれない。

略歴

福島 昭治(ふくしま しょうじ)

1967 年 3 月 名古屋市立大学医学部 卒業
1967 年 4 月 名城病院にてインターン
1968 年 4 月 名古屋市立大学医学部第一病理学教室助手
1974 年 7 月 藤田保健衛生大学衛生学部病理学教室講師
1977 年 10 月 マサチューセッツ大学医学部病理学教室留学
1980 年 7 月 名古屋市立大学医学部第一病理学教室助教授
1990 年 10 月 大阪市立大学医学部第一病理学教室教授
2002 年 4 月 大阪市立大学大学院医学研究科長・医学部長
2006 年 4 月 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ
研究センター所長 大阪市立大学名誉教授
現在に至る

ILSI Japan 創立 30 周年に寄せて

《 from President of ILSI 》

Dear colleagues and friends throughout ILSI Japan,

On behalf of ILSI and also personally, I congratulate you on 30 years of leadership within the scientific community. ILSI Japan's research programs have improved our basic understanding of many important issues, from the role food components play in enhancing health and quality-of-life to how to ensure a safe food supply and healthy environment. ILSI Japan's ability to build partnerships to conduct research and translate science into community-level results is something all of ILSI should strive to emulate.

It is fitting the celebration of ILSI Japan's 30th Anniversary is being held in conjunction with the 6th International Conference on Nutrition and Aging. ILSI Japan has led ILSI in recognizing the needs of the elderly, and over the decades these conferences have brought attention to the importance and the complexity in maintaining health and well-being late into life. ILSI Japan has also demonstrated innovation in adult health by applying the principles of TAKE 10!® – short, sustainable periods of activity incorporated into the day's routine – to work environments and elderly care facilities.

One of ILSI Japan's outstanding successes among many has been this ability to use research to build programs that have real impact. In addition to the extension of TAKE 10! through ILSI Japan Center for Health Promotion into new populations, I am thinking of Project SWAN and Project IDEA. In both of these, ILSI Japan has combined nutrition research, food science, technology, and community outreach to create more than temporary solutions. You have implemented sustainable systems for the delivery of potable water and essential micronutrients in culturally relevant ways. Through your work, you have helped improved the lives of millions of people throughout Asia.

ILSI Japan's commitment to science, technology, partnership, and philanthropy exemplifies ILSI's mission to make the world a better place. I am honored to serve as ILSI President during your 30th Anniversary, and I and the entire ILSI family thank you for your ongoing contributions to the science, to public health, and to the success of the ILSI organization.

Sincerely and with warm wishes,

Peter van Bladeren
President, International Life Sciences Institute

《 from Executive Director of ILSI/ILSI RF 》



International Life
Sciences Institute

1156 Fifteenth Street, NW
Suite 200
Washington, DC 20005

1.202.659.0074 voice
1.202.659.3859 fax
www.ilsi.org

September 20, 2011

Dear Dr. Kimura, ILSI Japan members, advisors and staff,

I am honored to join many others in sending best wishes to you on the occasion of the 30th Anniversary of the founding of ILSI Japan. As the first branch of ILSI, you have often led the way as ILSI has grown and expanded its geographic and scientific coverage.

Very special memories were created on my first visit to ILSI Japan as part of a planning exercise for the first International Conference on Nutrition and Aging in 1990. I was a new member of the ILSI Research Foundation staff and had never been to Japan before. With the help of Mr. Fukutomi and Dr. Obara, such very special people, I had a wonderful experience. The international conference was very successful and I am pleased to see that ILSI Japan has continued the conference series, with the sixth one having recently been completed. You should be rightfully proud of the knowledge base you have amassed on this important topic over the past 20 years.

On this first trip, I was introduced the concept of functional foods, one that is now discussed around the world. ILSI Japan was a leader within the ILSI family in building the science base that underpins our understanding of functional foods today. The work you have funded through the Endowed Chair of Functional Food Science and Nutrigenomics at Tokyo University is certainly a model for other branches to follow. You have been willing to share your expertise with other branches through the international functional foods meetings – the First International Conference on East-West Perspectives on Functional Foods in Singapore, with ILSI Southeast Asia Region; the functional foods meetings organized by ILSI Europe – and through organizing research involving projects in Japan and other countries – such as the tea research project.

From its earliest days, ILSI Japan was a key leader in ILSI's efforts to promote harmonization of risk assessment science. The histopathology seminars, which brought together pathologists and toxicologists from Japan, the US and Europe, is a hallmark for the value that harmonization can bring to public health. Having agreement among pathologists and toxicologists around the world on what was a precancerous tissue and what was not, led to strong advancements in the understanding of carcinogenesis.

ILSI Japan continues to pursue harmonization with its neighbors through the ongoing BeSoTo effort to harmonize food safety regulations across China, Korea and Japan. This effort will also provide strong public health benefit by helping to focus resources on the most important regulatory areas to ensure food safety.



Another important area to recognize where ILSI Japan has been a leader within ILSI is the area of education. By translating ILSI publications into Japanese, ILSI Japan has provided a tremendous service to the whole organization as well as to the scientific community in Japan. The Japanese versions of *Nutrition Reviews* and *Present Knowledge in Nutrition*, as well as translations of many of ILSI Europe's concise monographs have made the information contained in these publications accessible to the scientific community in Japan. By helping to share the knowledge compiled by ILSI in other parts of the world, ILSI Japan continues to support ILSI's mission of providing science that improves public health and well being.

Happy 30th Anniversary to ILSI Japan! I have no doubt that you will accomplish even more in the next 30 years.

Very best regards,

Suzanne S. Harris, Ph.D.
Executive Director
ILSI/ILSI Research Foundation

《 from ILSI Argentina 》

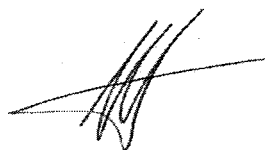
Dear ILSI Japan Colleagues

It is a great pleasure to send our Congratulations and best wishes on your 30th Anniversary!

ILSI Japan is a reference branch within the ILSI Family due to its scientific work and experience. ILSI Argentina has enjoyed working in collaboration with ILSI Japan in the area of compositional studies in tea varieties and it was a privilege to have received the scientific support and advise in this project.

We wish you continued success and hope to be able to collaborate in the future again

Our best



Juan Carlos López Musi
President
ILSI ARGENTINA

《 from ILSI Europe 》

ILSI Europe congratulates ILSI Japan with its 30th anniversary

One of the strengths of ILSI is its global scope. It is a pleasure to share the mission to improve public health by the advancement of science with colleagues of different cultures all over the world. ILSI Japan is one of the oldest and strongest ILSI branches and many ILSI Europe publications have been translated into Japanese.

Considering that the populations of Japan and Europe are fortunate to enjoy a food supply of a quality and quantity that compares favourably with most other regions of the world, one might ask whether these countries still need the attention of an organisation like ILSI. The answer is a clear YES. We still face considerable challenges. For instance, the increasing sensitivity of analytical techniques will continue to result in the identification of low concentrations of undesired substances in our food. These discoveries require considerable investment in risk characterisation, including development of new risk assessment methods and strategies to reduce exposure. An example from the area of nutrition is the interaction of diet with modern lifestyle. Having been selected for energy efficiency during millions of years in an environment that combined an unstable food supply with strenuous physical activity, our bodies are not very well adapted to life in industrialised societies where food is abundant and physical exertion is no longer required for most people. The resulting rise in obesity and related non-communicable diseases can only be reversed by a concerted and sustained effort by all stakeholders, including ILSI.

ILSI Japan and ILSI Europe have collaborated fruitfully in the past, most intensively on functional foods, in which Japan can be proud of its pioneer role. On multiple occasions we have been honoured to host Japanese visitors, and to discuss projects like the scientific substantiation of health claims on foods, micronutrient requirements, risk and benefit assessment of chemicals in food, the threshold of toxicological concern, and many other topics. In a recent visit to ILSI Japan, I was impressed by the kind hospitality of my Japanese colleagues, excellent organisation of the event, and high quality of the science presented.

On behalf of the Board of Directors and staff of ILSI Europe, I would like to warmly congratulate ILSI Japan with its 30th anniversary. We look forward to continue our collaboration in the future.

Dr. Nico van Belzen
Executive director
ILSI Europe
www.ils.eu

《 from ILSI Focal Point in China 》



ILSI
Focal Point
in China

ILSI Focal Point in China

Room 9-03, 27 Nan Wei Road, Beijing 100050, China
Tel. +86 10 8315 9165, 6317 0892 Fax +86 10 8315 9164

23 October, 2011

Dear Yamaguchi-san

On behalf of the ILSI Focal Point in China, I would send our sincere congratulations to the 30th anniversary of ILSI Japan. We always regard ILSI Japan as our old brother, not only because of the long history of ILSI Japan, but also more important because of the outstanding achievements of ILSI Japan in the past 30 years. We would like to learn from you and have much close collaboration with ILSI Japan.

Junshi Chen

Junshi Chen
Director
ILSI Focal Point in China

《 from ILSI-India 》

To: ILSI Japan Board of Trustees, Members and Staff

I am happy to know that ILSI Japan is celebrating its 30th Anniversary. ILSI Japan is one of the oldest Branch of ILSI and has been a good resource for other ILSI branches. Its cooperation is highly valued by ILSI India. ILSI Japan has devoted itself to improving public health through its activities including research projects on nutrition and food safety. Its work on functional foods and nutrition and aging are particularly noteworthy. On behalf of ILSI-India I have great pleasure in congratulating ILSI Japan on this important occasion and wish it all success in its future endeavors.

Rekha Sinha
Executive Director

《 from ILSI Southeast Asia Reasion 》

Congratulatory Message

ILSI SEA Region is proud to have enjoyed a long and fruitful collaborative partnership with ILSI Japan. Since ILSI SEA Region was established in 1993, we have worked with ILSI Japan on key areas including nutrition and aging, functional foods, obesity and food safety. We have also partnered with ILSI Japan's Center for Health Promotion (ILSI Japan CHP) on the important micronutrient fortification programs in several developing Southeast Asian countries.

As an active member of the ILSI Family, ILSI Japan has been supportive of collaborations between ILSI's many branches. Specifically, ILSI Japan has helped to foster closer coordination and partnership among ILSI's Asian branches, which include ILSI SEA Region, ILSI Focal Point in China, ILSI Korea and ILSI India. Besides supporting each other's activities through participation and program support, ILSI's Asian branches also get together once a year at the ILSI Annual Meeting.

In the past 2 years, ILSI Japan has also initiated a program to address food security issues in Southeast Asia, with collaboration from ILSI SEA Region, ILSI Focal Point in China and ILSI Korea. ILSI Japan CHP is also partnering with ILSI SEA Region in conducting a feasibility study for Project SWAN (Safe Water and Nutrition) in Indonesia.

On this significant milestone and happy occasion of its 30th Anniversary celebration, ILSI SEA Region would like to extend our heartiest congratulations to ILSI Japan for its many achievements. We look forward to further strengthening the partnership between ILSI Japan and ILSI SEA Region, and we wish ILSI Japan continued success for many more years to come!



Geoffry L Smith

President



Boon Yee Yeong

Executive Director

30年の歩み — ILSI Japan の主な活動 —

年	国際会議・セミナー・部会活動のあらまし	海外活動・国際協力活動
1981年	ILSI 等活動検討委員会発会 (7/13) 設立記念講演会 (東京) 代謝とミネラル部会、食品添加物摂取量調査部会、食塩部会発足	栄養専門家委員会に出席
1982年	機関誌「食品とライフサイエンス」発刊 (季刊・1～30) (1992年発行の31号から「ILSI・イルシー」と改称)	
1983年	ILSI 奈良毒性病理セミナー (第1回：内分泌系) 開始 食品添加物部会報告書「食品添加物の摂取量調査と問題点」 追加資料「食品添加物一日摂取量」 砂糖部会発足	
1984年	代謝とミネラル部会報告書「子供の骨折についての一考察」 食塩部会報告書「食生活と食塩のあり方」 砂糖部会報告書「砂糖と健康」 ILSI 奈良毒性病理セミナー (第2回：呼吸器系)	
1985年	ILSI 奈良毒性病理セミナー (第3回：消化器系) 健康部会 (成人病の防止考察)、食品の安全性部会 (安全性評価の方法検討)、 栄養部会 (国民栄養調査以外の栄養摂取調査) 発足	
1986年	ILSI 活動委員会と改称 (2/27) ILSI Japan と ILSI 活動委員会統合準備委員会発足 (8/7) 5周年記念「食と健康」シンポジウム (東京) ILSI 奈良毒性病理セミナー (第4回：尿路系) 講演会「油脂と栄養」 (東京) 油脂と栄養部会発足	安全性評価に関する国際シンポジウムを主催 食事と健康国際シンポジウム (ルポアル) に参加
1987年	ILSI 奈良毒性病理セミナー (第5回：生殖系) 各部会中間報告発表講演会 (東京)	
1988年	ILSI Japan と ILSI 活動委員会を ILSI Japan に統合 (1/1) 7周年記念フォーラム「健全な食生活をめざして」・各部会報告講演 (東京) (後日「食と健康」および「日本人の栄養」として報告書出版) ILSI 奈良毒性病理セミナー (第6回：神経系) がんプロモーター講演会 リスクアセスメント講演会 (東京) ILSI 栄養学ミニシンポジウム (東京) フィットネス講演会 (東京) ILSI バイオテクノロジー国際セミナー (東京) カルシウム講演会 (東京)	第1回栄養とフィットネス国際会議 (オリンピック) に参加 「食品の安全性」トキシコロジー・フォーラム (北京) に参加
1989年	ILSI 奈良毒性病理セミナー (第7回：皮膚と乳腫) 動物実験教育訓練セミナー (3年間に10回開催) (東京) 栄養学講演会 (東京) バイオテクノロジー部会発足	
1990年	ILSI 奈良毒性病理セミナー (第8回：造血とリンパ器官) 安全性評価講演会 (大阪・東京) ILSI Japan 共催、第44回日本栄養・食糧学会記念公開学術講演会 (仙台) 栄養・健康講演会 (東京)	第1回アジア食品安全・栄養会議 (クアラルンプール) に参加
1991年	油脂の栄養部会報告書「油脂の栄養と健康」 ILSI 奈良毒性病理セミナー (第9回：心臓血管系) 病理学講演会 (2回・東京) バイオテクノロジー講演会 座談会「ILSI Japan への期待」 (東京) 座談会「ILSI Japan の十年」 (東京) 第1回「栄養とエイジング」国際会議 (東京) ILSI Japan 10周年記念講演会・記念式典 (東京)	第6回アジア栄養会議における WHO / ILSI 共催のワークショップ (クアラルンプール) に参加

1992年	ILSI 奈良毒性病理セミナー（第10回：骨組織） 環境化学物質関連講演会（大阪）、病理学講演会（大阪・東京） 安全性評価・リスクアセスメント講演会（東京） バイオテクノロジー研究懇談会（東京） 栄養とエイジング講演会2回（東京） 栄養とエイジング公開研究集会（仙台、第2回全国食文化交流プラザ） 油脂の栄養と健康講演会（2回・東京）	
1993年	ILSI 奈良毒性病理セミナー（第11回：目・耳）——第1シリーズ終了 「毒性学の将来展望」国際シンポジウム（東京・奈良） 栄養とエイジング講演会2回（東京） 研究部会報告講演会「バイオテクノロジーおよび油脂の栄養と健康」（東京） バイオテクノロジー応用食品国際シンポジウム（東京） （後日、講演録「バイオ食品——社会的需要に向けて」出版）	
1994年	ILSI 奈良毒性病理セミナー第2回シリーズ（第1回：内分泌系） 安全性部会報告会「加工食品の保存性と日付表示」（東京）→報告書出版 「食物とアレルギー」講演会（2回・東京） 「HACCP システムのコンセプトと実例」講演会（東京） バイオ食品セミナー「社会的需要について米国と日本の相違」（東京） 公開シンポジウム「栄養表示と教育」（日本学術会議と共催；東京） 栄養とエイジング部会発足（研究・調査と第2回国際会議に向けて準備）	第2回アジア食品安全・ 栄養会議（バンコク）に参加
1995年	油脂の栄養部会報告書 「パーム油の栄養と健康」「魚介類脂質の栄養と健康」「畜産脂質の栄養と健康」 ILSI 奈良毒性病理セミナー第2シリーズ（第2回：呼吸器系） 講演会「食生活の不安とマスメディア」（東京） バイオ食品講演会「組換え作物の商品化と安全性評価の動き」（東京） <u>第2回「栄養とエイジング」国際会議（東京）</u>	
1996年	ILSI 奈良毒性病理セミナー第2シリーズ（第3回：肝臓） Codex アジア地区調整会議（アジア地域流通食品の規格設定）（東京） バイオ討論会「歩き始めたバイオ食品——バイオ作物利用の立場から——」（東京） 「組換え作物のメリット」「食品の安全性とは」「安全性指針への適合の確認」 油脂の栄養講演会「脂質関連の栄養と機能性食品の考え方」（東京） 栄養表示講演会「栄養表示の国際的な流れとわが国の法改正のポイント」（東京） 「おいしさの科学」フォーラム 第1回（東京） 「味覚心理学から見た味の基本的性質」「おいしさの評価法」 「おいしさの科学」フォーラム 第2回（東京） 「味覚生理学からみたおいしさの要因」「食のターミノロジー」 （社）日本栄養士会との共催セミナー「高齢化と栄養」（東京） 「栄養と免疫」「高齢者に必要な栄養素」 砂糖と健康講演会「砂糖をどう評価するか」（東京） 「砂糖の人気はなぜ大きく揺れる」「砂糖の摂取と健康」 国際食品情報協議会（IFIC）講演会（東京） 講演会「機能性食品をどう評価するか」（東京） <u>国際協力委員会（Codex 関連、ILSI 各支部との連携）、機能性食品研究部会（評価基準・表示法規・市場・学術データの分科会を持つ）、砂糖研究部会発足</u>	
1997年	ILSI 奈良毒性病理セミナー第2回シリーズ（第4回：尿路系） ILSI-HESI Workshop（東京） 「げっ歯類による発がん試験代替法とその科学的原則」 「遺伝子改変マウスによる発がん性試験」 「ICH によるげっ歯類による発がん性試験代替法の考え方」 水の安全性に関する講演会（東京） 「水の安全性に対する取組み方と対応」 リスクサイエンス講演会（東京） 「リスクサイエンスとILSI」「食をめぐるリスクとその対応・ILSIの役割」 健康表示講演会「健康表示に関する諸問題」（東京） 機能性食品セミナー「ヨーロッパの機能性食品の展開」（東京）	

	<p>「おいしさの科学」フォーラム 第3回 (東京) 「咀嚼と血流との関係」「にのいの特徴」 「おいしさの科学」フォーラム 第4回 (東京) 「香気成分分析とおいしさの評価」「美味学からみたテクスチャー」 「おいしさの科学」フォーラム 第5回 (東京) 「おいしく食べるために——噛むこと・味わうこと」 「おいしさ・好き嫌い・食嗜好」 「おいしさの科学」フォーラム 第6回 (東京) 「食情報の脳内機序と生理的意義」「食品中の脂肪のおいしさを考える」 砂糖をどう評価するか・ことと砂糖講演会 (東京) 「からだは砂糖にどう反応するか」「砂糖と脳機能の働き」 油脂の栄養と健康講演会 (東京) 「抗酸化ビタミンとフリーラジカル」「オレストラとその安全性」 (社)日本栄養士会との共催セミナー「食品汚染微生物と腸内菌叢」(東京) 「大腸の生理機能と腸内細菌」「感染(食中毒)に対する腸内細菌の役割」 「食品の微生物危害(O-157)」 茶部会、EDC部会、栄養強化食品部会発足</p>	
1998年	<p>ILSI 奈良毒性病理セミナー第2シリーズ (第5回:生殖器) 組織培養法セミナー (東京) 「毒性学における <i>in vitro</i> システムの新しい提案」 「環境ホルモンの新しい検出法」 食品安全セミナー「食品安全確保のための微生物汚染リスクアセスメントとその応用」(東京) EDC セミナー (東京) 「<i>in vitro</i> 基準の作成」「ホルモン様活性物質のリスクアセスメント」 国際セミナー「健康と栄養—食事摂取量の基準と機能性食品—」(東京) (日本健康・栄養食品協会との共催) 「食事摂取参考量:概念規定と策定方法・国際整合」 「ヨーロッパの機能性食品」「アメリカの機能性食品」 講演会「最近の長寿傾向と栄養科学の課題」(東京) 「長寿のための食と栄養」講演会 (東京) 「おいしさの科学」フォーラム 第7回 (東京) 「味の受容・応答の分子論」 「おいしさの仕組みと好き嫌いの発現に関する脳の仕組み」 砂糖研究会報告会「医学的・栄養学的見地からの砂糖に関する調査研究事業」 (精糖工業会より委託研究) (東京) (社)日本栄養士会との共催セミナー「脂質栄養の最前線」(東京) 「脂溶性ビタミンの栄養生理」「脂質の消化・吸収のメカニズム」 「不飽和脂肪酸(n-3/n-6/n-9)の栄養評価」「生活習慣病と高脂血症」 講演会「茶と健康の最先端」(東京) 「緑茶による癌の予防」「茶の抗微生物作用とその応用」 「茶の多機能性について」 講演会「食品機能研究と健康強調表示の現状と今後」(東京) 「食品機能性研究の現状と今後」「特定保健用食品の状況」 「消費者の立場からの食品機能と表示」「食品の健康強調表示」 砂糖部会翻訳モノグラフシリーズ出版 「糖と栄養・健康——新しい評価」「う蝕予防戦略」 「甘味の生物学的・行動学的・社会的観点」「栄養疫学——可能性の限界」 機能性食品部会報告書「日本における機能性食品の現状と課題」 茶部会報告書「茶の健康上有益な効果」(BIBRAの翻訳/「ILSI・イルシー」誌に掲載) 機能性食品部会を健康表示部会と改称</p>	
1999年	<p>ILSI 奈良毒性病理セミナー第2シリーズ (第6回:神経系) ——第2シリーズ終了 「おいしさの科学」フォーラム 第8回 (東京)</p>	<p>アジア栄養と健康シンポジウム (シンガポール)に参加</p>

	<p>「食の調節と味覚修飾因子・肥満抑制物質、唾液タンパク質、食物中の脂肪」 「テクスチャーの数値化から感性科学に向けて」 「おいしさの科学」フォーラム 第9回 (東京) 「人の舌を超えた味覚センサー」「食物摂取とおいしさの神経生理機構」 「おいしさの科学」フォーラム 第10回 (東京) 「食品テクスチャーの咀嚼活動による評価」 「味刺激の受容機構と味覚修飾作用」 栄養強化食品セミナー「血液の基本および貧血について」(東京) 第3回「栄養とエイジング」国際会議 (東京) 日米合同シンポジウム「生活習慣病——対策とその科学的根拠」 (日米医学協力研究会主催、ILSI 共催 (東京)) (社) 日本栄養士会との共催セミナー「骨粗鬆症の予防・診断・治療の諸問題」 (東京) 「骨の健康問題」「カルシウムの栄養について」 「骨粗鬆症の予防のための食生活」 機能性食品講演会「信頼ある科学的データとわかりやすい健康表示」(東京) 「抗酸化能の新評価法」「農産物の生理的機能」 バイオテクノロジー部会報告書「遺伝子組換え食品を理解する——遺伝子組換え食品 Q&A」 健康表示部会提言「機能性食品の健康表示——科学的根拠と制度に関する提言 (英訳 “Health Claim on Functional Foods”)」 油脂の栄養部会翻訳「油脂の栄養と健康 (ILSI モノグラフ・シリーズ)」 砂糖部会翻訳「糖質の栄養・健康上の問題点 (Am. J. Clin. Nutr. 1995)」</p>	<p>アジア栄養会議でワークショップ「RDA」(ソウル)を共催 「機能性食品の科学」会議(マドリード)に参加 韓国 FDA セミナーで発表 国際バイオテクノロジー・シンポジウム(ソウル)に参加 国際機能性食品セミナー(サンパウロ)で発表 FAO/ILSI プレ Codex ワークショップ(タイ) Codex アジア部会(タイ)</p>
2000 年	<p>FAO/WHO バイオテクノロジーと食品安全シンポジウム(幕張) Codex バイオ WG 会議に NGO として参加(東京) Codex バイオ応用食品特別部会(CTFBT) WG に参加(東京) 遺伝子組換え食品シンポジウム「安全性を確認するためにどんな試験をしているのか」(東京) 日本栄養・食糧学会公開研究会「食事摂取基準への歩み」(松山) ビタミン広報センター講演会(ILSI Japan 協賛)(東京) 「茶と健康」セミナー(東京) 「世界が茶の健康効果に注目し始めた」「茶カテキンと鉄の相互作用について」 「茶樹の化学分類学事始め——テルペンとカテキン」 「ギャバロン茶成分の効用と機構」 「おいしさの科学」フォーラム 第11回(最終)(東京) 「おいしさの科学の新側面——味覚の分子生物学」 「おいしさの機能——食物の摂取および選択との関連で考える」 IUFoST Japan 公開シンポジウム「日本の機能性食品科学の主軸——歴史・現状・未来展望」(ILSI Japan 協賛; 東京) プロジェクト PAN (Take 10!® ——運動と栄養) ワークショップ(東京) Take 10 講演会(東京) 砂糖部会報告「砂糖は生体の生理作用にどのような機能を果たしているか」 (「ILSI・イルシー」誌に掲載) バイオテクノロジー部会翻訳「食品に用いられる生きた遺伝子組換え微生物の安全性評価 (ILSI Europe Workshop 編)」</p>	<p>Codex 食品規格委員会(オタワ)に参加 第3回アジア食品安全・栄養会議(北京)に参加</p>
2001 年	<p>講演会「ビタミンEと脳の健康」(東京) シンポジウム「遺伝子組換え食品」シリーズ 1. 「食糧資源のための植物バイオ」 (日本学術会議主催、ILSI Japan 後援; 大阪) 2. 「どのように表示されるのか」 (ILSI Japan、(財) 食品産業センター主催; 東京) 3. 「どのように表示するのか」 (ILSI Japan、(財) 食品産業センター主催; 東京) 4. 「安全性を確認するためにどんな試験をしているのか」 (ILSI Japan、(財) 食品産業センター主催; 名古屋) シンポジウム「植物バイオテクノロジーの将来」(東京)</p>	<p>国際シンポジウム 「“機能性食品”その科学的・国際的展望」(パリ)に参加</p>

	<p>シンポジウム「遺伝子組換え食品の安全性」(札幌)</p> <p>食品の安全講演会(東京)</p> <p>日本栄養・食糧学会公開研究会(ILSI Japan 後援:京都)「食糧摂取基準の歩み」</p> <p>茶の科学ワークショップ(静岡)</p> <p>ILSI Japan 20周年記念国際シンポジウム</p> <p>「糖質(Glycemic Carbohydrates)と健康」(東京)</p> <p>任意団体 日本国際生命科学協会 解散総会</p> <p>特定非営利活動法人 日本国際生命科学協会 創立総会</p>	
2002年	<p>シンポジウム「遺伝子組換え食品—安全性を確認するためにどんな試験をしているのか—」(京都)</p> <p>第1回「リスクアナリシス・ワークショップ」(東京)</p> <p>「食の安全のためのリスクアセスメント 我が国におけるトレーニングニーズ」</p> <p>ワークショップ「機能性食品の科学をどのように発展させるか?」(東京)</p> <p>シンポジウム「食品の抗酸化機能」(東京)</p> <p>講演会「食品の機能性研究の新戦略」(東京)</p> <p>シンポジウム「身体活動の増進とヘルスプロモーション」(東京)</p> <p style="text-align: right;">< ILSI CHP Japan と共催 ></p> <p>第3回 IUFoST-JAPAN シンポジウム(東京)</p> <p>「ニュートリゲノミクス—最先端科学で食の機能を評価する—」</p> <p>バイオテクノロジー国際シンポジウム(東京)</p>	<p>ILSI 東南アジア「肥満予防・管理シンポジウム」(シンガポール) に出席</p> <p>第30回 Codex 表示部会(カナダ、オタワ)</p> <p>アジア調整部会(マレーシア、クアラルンプール)</p> <p>第3回 バイオテクノロジー応用食品特別部会(横浜)</p>
2003年	<p>第1回 JOCS-ILSI JAPAN JOINT SYMPOSIUM「油脂で創る健康」(東京)</p> <p>「ILSI Japan 耐熱性好酸性菌シンポジウム」(東京)</p> <p>—世界における食品汚染実態と対策の方向性—</p> <p>—微生物学的基礎知識と検査方法の詳細—</p> <p>「タンパク質のアレルギー性に関するワークショップ」(東京)</p> <p>「機能性食品開発—国際的動向と機能性素材の科学」(東京)</p> <p style="text-align: center;">国際協力委員会—食品新素材協議会ジョイントセミナー</p> <p>「茶葉成分に関するワークショップ」</p> <p>(世界 O-CHA フォーラムの学術集会として) <静岡></p> <p>第4回「栄養とエイジング」国際会議(東京)</p> <p>東京大学大学院農学生命科学研究科</p> <p>イルシー ジャパン寄付講座「機能性食品ゲノミクス」開設</p>	<p>第4回 バイオテクノロジー応用食品特別部会(横浜)</p> <p>ILSI Europe</p> <p>PASSCLAIM ワークショップ(フランス、ボルドー) 参加</p> <p>TNO ニュートリゲノミクス国際会議(オランダ、ワゲニンゲン) 参加</p>
2004年	<p>講演会「食の安全」(東京)</p> <p>講演会「食品の安全に関わるリスクについて」(東京)</p> <p>第4回「食品リスク研究」講演会(東京)</p> <p>Marianski を囲む会: バイオテクノロジー研究部会(東京)</p> <p>栄養部会セミナー「肥満」(東京)</p> <p>Project IDEA 報告会(東京)</p> <p>欧州における食物アレルギー講演会(東京)</p> <p>イルシー ジャパン寄付講座「機能性食品ゲノミクス」研究報告会(東京)</p> <p>国際毒性病理学会・ランチョンセミナー(神戸) (ILSI Japan/ ILSI HESI 共催)</p> <p>Vahouny-ILSI Japan 難消化性糖質国際シンポジウム(東京)</p> <p>「茶葉成分に関するワークショップ—茶成分データ」</p> <p>(世界 O-CHA フォーラムの学術集会として) <静岡></p> <p>遺伝子組換え体検知技術国際ワークショップ(横浜)</p>	<p>第26回 Codex 栄養・特殊用途食品部会(ドイツ、ボン)</p> <p>第14回 Codex アジア地域調整部会(韓国、済州島)</p>
2005年	<p>肥満タスクフォース講演会(東京)</p> <p>第59回日本栄養・食糧学会サテライトシンポジウム(東京)</p> <p>「体重管理と健康増進・疾病予防」</p> <p>シンポジウム「地域・職域におけるこれからの健康づくり事業」(東京)</p> <p>第2回 JOCS-ILSI JAPAN JOINT SYMPOSIUM(東京)</p> <p>「油脂で創る健康—最新の油脂研究と栄養行政の新しい動き」</p>	<p>第27回 Codex 栄養・特殊用途食品部会(ドイツ、ボン)</p> <p>第5回 Codex バイオテクノロジー応用食品特別部会(幕張)</p>

	<p>栄養研究部会主催セミナー（東京） 「パブリックヘルスと栄養疫学、日本と米国の例」 第5回食品リスク研究講演会（東京） 日本トキシコロジー学会 HESI ランチョンセミナー（東京） 「バイオテクノロジーにより栄養改善された食品および飼料の栄養ならびに安全性アセスメント」セミナー（大阪、東京） 「バイオテクノロジーにより栄養改善された食品および飼料の栄養ならびに安全性アセスメント」ワークショップ（東京）</p>	
2006年	<p>第1回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム「食品の安全・安心」（東京） 東京大学寄付講座2周年記念公開シンポジウム（東京） 食物アレルギーシンポジウム（東京） HESI フォーラム（東京） 食品汚染微生物シンポジウム（東京） 食品リスク研究講演会「カビ毒のリスク評価について」（東京） CHP「すみだテイクテン」講習会（東京） 「LiSM10!®」カウンセラー養成研修（東京） 「ヘルスプロモーション」講演会（東京） 「遺伝子組換え植物の生物多様性影響評価に関する国際ワークショップ」 バイテク情報普及会・協賛</p>	<p>第34回 Codex 食品表示部会（カナダ、オタワ） 第28回 Codex 栄養・特殊用途食品部会（タイ、チェンマイ） 第6回 Codex バイオテクノロジー応用食品特別部会（幕張）</p>
2007年	<p>第2回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム「肥満に関する現状と科学」（東京） 第3回 JOCS-ILSI JAPAN JOINT SYMPOSIUM（東京） 「油脂で創る健康—トランス酸を取り巻く世界の流れ、日本の動向」 NNFA ジョイントセミナー（東京） 「栄養素と認知症について：疫学調査の観点から」 東京大学・ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」研究報告会（東京） 「食物アレルギー」シンポジウム（東京） CHP「すみだテイクテン」講習会（東京） CHP「すみだテイクテン」フォローアップ教室（東京） CHP「ふそうテイクテン」講習会（愛知） CHP「津和野シルバー人材センター介護予防リーダー」講習会（島根） 「LiSM10!®」カウンセラー養成研修（東京） 第5回「栄養とエイジング」国際会議（東京） 第2回「遺伝子組換え植物の生物多様性影響評価に関する国際ワークショップ」（東京）</p>	<p>第29回 Codex 栄養・特殊用途食品部会（ドイツ、ボン）</p>
2008年	<p>微生物・リスク研究部会共催／毒性学教育講座（東京） 「ヘルスクレームの科学—日本とEU」講演会（東京） 日米シンポジウム「食品成分の機能性」（東京） 第3回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム「機能性食品COEの現状」（東京） 講演会「TAKE10!®でいつまでも元気～これからの介護予防のために～」（島根） 墨田区すみだテイクテン（東京） 「栄養講演会 ～最新研究が教える食事の秘訣！高齢者は肉も脂も食べよう！」 CHP「すみだテイクテン」講習会（東京） CHP「すみだテイクテン」フォローアップ教室（東京） CHP「ふそうテイクテン」講習会（愛知） 益田市介護予防リーダー養成講座（島根） 津和野町介護予防リーダー養成講座（島根） 札幌医科大学との共同研究による「TAKE10!® 通信教育」介入研究対象者説明会およびベースライン調査（北海道） 「LiSM10!®」行動変容スキルアップセミナー（東京） 「LiSM10!®」カウンセラー養成研修（東京）</p>	<p>Project SWAN 普及ワークショップ（ベトナム） Project SWAN 評価プロジェクト栄養調査（ベトナム） 第30回 Codex 栄養・特殊用途食品部会（南アフリカ、ケープタウン）</p>
2009年	<p>微生物・リスク研究部会共催／毒性学教育講座（東京） 第4回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム（東京） 「日本の食生活と肥満研究部会報告会」</p>	<p>Project SWAN 評価プロジェクト栄養調査（ベトナム）</p>

	<p>炭水化物研究部会／GR リング試験第 1 回報告会および protocol 検討会（東京） 第 4 回 JOCS-ILSI JAPAN JOINT SYMPOSIUM（東京） 「油脂で創る健康—生体の機能保全と安全・安心の脂質利用 ～脂質分析の基礎と応用から疾病予防と食品機能性のフロンティアを探る～」 東京大学・ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」公開シンポジウム（東京） 公開セミナー「これからの介護予防を考える」（東京） 津和野町シルバー人材センター介護予防事業特別講演会（島根） 「こらからの介護予防のために～テイクテンでいつまでも元気～」 岩国市社会福祉協議会錦町支部主催講演会（山口） 「自立高齢者の介護予防を目指して～テイクテンでいつまでも元気～」 墨田区高齢者福祉課主催すみだテイクテン栄養講演会（東京） 「最新研究が教える食事の秘訣～高齢者は肉も脂も食べよう～」 CHP「すみだテイクテン」講習会（東京） CHP「すみだテイクテン」フォローアップ教室（東京） 益田市介護予防リーダー養成講座（島根） 津和野町介護予防リーダー養成講座（島根） 「TAKE10!@」通信教育介入研究評価（北海道） 「LiSM10!@」カウンセラー養成研修（東京） 「イルシー」誌 100 号記念座談会（東京、2 回）</p>	<p>Project IDEA 市場調査（カンボジア） Project IDEA「食事摂取量に関するワークショップ」（カンボジア） Project IDEA「貧血罹患率と食事摂取状況の 24 か月調査」（カンボジア） ベトナムでの食品産業の廃水処理に関するセミナー（ベトナム） EU プロジェクト “BRAFO”セミナー（東京） 東アジアプロジェクト（東京） 第 31 回 Codex 栄養・特殊用途食品部会 （ドイツ、デュッセルドルフ）</p>
2010 年	<p>微生物・リスク研究部会共催／毒性学教育講座（東京） 「微生物のリスク評価国際動向」講演会（東京） 講演会「食と科学 —リスクコミュニケーションのあり方—」（後援）（東京） 講演会「食品に含まれる新規化学物質のリスク評価とコミュニケーションのあり方」（後援）（東京） 第 5 回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム（東京） 「ILSI Japan—グローバルな活動をめざして」 「水分補給のサイエンス」講演会（東京） 東京大学・ILSI Japan 寄付講座研究報告会（東京） 江戸川総合人生大学公開講座「食べることは生きること」（東京） 江戸川総合人生大学 介護・福祉学科講義「介護予防」（東京） 墨田区高齢者福祉課主催「すみだテイクテン」栄養講演会（東京） 「最新研究が教える食事の秘訣～高齢者は肉も脂も食べよう～」 CHP「すみだテイクテン」講習会（東京） CHP「すみだテイクテン」フォローアップ教室（東京） 益田市介護予防リーダー養成講座（島根） 岩国市社会福祉協議会錦支部 テイクテン介護予防リーダー養成講習（山口） テイクテン介護予防リーダー養成スキルアップ講座（島根） 墨田区介護予防サポーター養成講座「介護予防概論」講義（東京） 「LiSM10!@」カウンセラー養成研修（東京） 機関誌「イルシー」100 号発刊 ポストワークショップ「GMO 検知技術の国際動向」（東京） ワークショップ「東アジアの食品等の企画基準の調査と結果の共有化」（東京） 第 4 回国際 O-CHA 学術会議 ILSI Japan セッション（静岡） 国際シンポジウム「リスク評価における TTC の有用性」（東京） 消費者庁 栄養成分表示検討会に参加</p>	<p>Industry Council for Development「Project SWAN - A community-based participatory approach in Vietnam」発表（フランス） 鉄強化魚醬プロジェクトワークショップ（カンボジア） 第 32 回 Codex 栄養・特殊用途食品部会（チリ、サンチャゴ）</p>
2011 年	<p>微生物・リスク研究部会共催／毒性学教育講座（東京） 第 6 回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム（東京） 「食の安全情報とフードフェディズムを取り巻く諸問題」 第 5 回 JOCS-ILSI JAPAN JOINT SYMPOSIUM（東京）</p>	<p>"International Conference for Sharing Information on Food Standards and Resource and Environment</p>

<p>「油脂で創る健康—トランス脂肪酸をめぐる話題 ～表示・分析・啓発～」 CHP 活動報告会（東京） 墨田区特定高齢者事業「口腔機能向上プログラム」講義「食べて生き生き術」（東京） 世田谷区主催介護予防教室「元気生活のための筋力アップ教室」（東京） CHP「すみだテイクテン」フォローアップ教室（東京） 益田市介護予防リーダー養成講座（島根） 岩国市社会福祉協議会錦支部 テイクテン介護予防リーダー養成講習（山口） 墨田区介護予防サポーター養成講座「栄養改善」講義（東京） 第6回「栄養とエイジング」国際会議（東京） 消費者庁 栄養成分表示検討会に参加</p>	<p>Conservation for Food Industries in Asia Pacific - Challenges and Opportunities for Food Safety & Human Health" (タイ)</p>
---	---

30 周年記念 ILSI Japan 事業 講演録
東京大学寄付講座「機能性食品ゲノミクス」
<栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証>
ILSI Japan 研究会・部会の研究関連トピックス

2011 年 9 月 30 日
東京大学 弥生講堂・一条ホール（東京都文京区）

主 催：特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構（ILSI Japan）

共 催：International Life Sciences Institute (ILSI)
ILSI Europe
ILSI Focal Point in China

後 援：農林水産省
東京大学高齢社会総合研究機構
社団法人 日本栄養・食糧学会
社団法人 日本栄養士会
日本応用老年学会
日本基礎老化学会
日本臨床栄養学会
日本ビタミン学会
独立行政法人 国立健康・栄養研究所

■開会の挨拶

栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証

阿部 啓子*

食は健康な生体を築き上げ、それを維持する上で限りなく重要である。適正な食生活は“Quality of life” (QOL) の向上に寄与する。まもなく日本では 65 才以上の高齢者が人口の 30% に達すると予想されている。したがって、日本における“Anti-aging”研究は、学術的にも社会的にも緊急の課題と言える。

“生活習慣病のリスクを軽減する新しい食品”として日本が発信した“機能性食品”の名称とそのコンセプトはグローバルに広まった。東京大学はその学術的基礎を築く上で中心的な役割を果たしてきた。機能性食品に対する信頼性をいっそう高めるためには、確かな科学的根拠をもってその効果を証明することが大切である。が、食品の効果の因果関係を証明することには大きな困難を伴う。医薬ならばそれがどの標的にどのように作用して病気がどの程度治ったのかを示せばよいので、効能を数値で表しやすいが、機能性食品では医薬とは異なり、疾病になる前に摂取してその効果を事前予測しなければならないので、難しい。加齢が原因で生活習慣病になるのであれば、加齢を遅らせることで病気を防ぐという“間接性”も機能性食品の効果の特徴である。予見的（プロスペクティブ）な解析が必要になる。

そのような背景を踏まえ、誕生した手法がニュートリゲノミクスで、ある食品を与えたときに体内の標的部位（例えば肝臓）で起こる諸々の変化を、逸早く遺伝子発現の変動から根源的に捉え、その効果を評価・検証・予知しようとするものである。これは栄養性、機能性、安全性の全てに関する予知効果が含まれる。

機能性食品の効果を DNA マイクロアレイの遺伝発現解析を中心にした手法で解明することをめざし、産業貢献することを目的に、2003 年 12 月に設立された東京大

学 ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」は第 1 期（5 年間）を終え、現在その第 2 期（5 年間）の活動を ILSI Japan の支援によって開始している。

本 Session では、“Anti-aging のための機能性食品因子”を日本企業の 4 名、栄養素所要量の安全性研究として、“ミネラル摂取基準のゲノミクスによる検証”を大学・公的機関の 2 名に発表していただいた。

“Anti-aging”に対する国際的な取り組みを第一線で行っている Dr. Fu (China) および Dr. Anderson (U.S.A.) にご紹介していただいた。

*東京大学大学院 農学生命科学研究科 特任教授

■アンチエイジングと機能性食品因子

マイクロアレイ解析を用いたラット小腸における サラシア属植物エキスの免疫亢進機能の発見

小田 由里子*

1. はじめに

デチンムル科のサラシア属植物 (*Salacia reticulata*, *Salacia oblonga* 等) の根部や幹はアーユルヴェーダの有
用植物として特に糖尿病の治療に有効であると伝承され
ている。これらには、サラシノール、コタラノール、マ
ンジフェリンなど特徴のある成分が含まれ、二糖類の分
解を抑え、吸収を阻害する働きがある。

本研究では、小腸におけるサラシア属植物エキスの
作用を理解するため、ラットにサラシア属植物エキスを
投与し、小腸上皮の遺伝子発現変化の解析を行った。遺
伝子発現解析には DNA マイクロアレイを用い、サラシ
ア属植物エキスを投与したラットの回腸上皮を解析した。
また、サラシア属植物エキスを投与したラットの腸内細
菌叢解析も、T-RFLP (Nagashima 法) にて合わせて行った。

その結果、サラシア属植物エキスを投与したラットの
小腸上皮において、多数の免疫関連遺伝子、特に細胞性
免疫を示す Th1 関連の遺伝子の発現増加が見られた。ま
た、サラシア属植物エキスを投与したラットの腸内細菌
叢は変化し、全体的に似通ってくるものが明らかにな
った。

本研究において、サラシア属植物エキスは、腸管免疫
機構を通して、生体調節作用を持つ可能性が示唆された。

2. Introduction

サラシア属植物 (サラシアレティキュラータ、サラシ
アオブロンガ等) エキスには、サラシノール、コタラ
ノール、マンジフェリン、カテキンを始めとする多くの

成分が含まれていることが明らかになっているが、全成
分の同定は出来ていない¹⁾。

サラシア属植物から抽出されるサラシノールとコタラ
ノールは *in vitro* の実験において α -グルコシダーゼの働
きを阻害することが知られており、糖負荷ラットの血糖
値上昇を抑制する効果を有していることが明らかになっ
ている²⁾。

α -グルコシダーゼが分泌されている小腸は異物の排
除や栄養成分の取り込み、免疫機能を司る生体にとって
非常に重要な器官であり、サラシア属植物エキスが影響
を及ぼしていると考えられているが腸管において、サラ
シア属植物成分がどのような働きをしているのかは明ら
かにされていない。

さらに、サラシア属植物エキスは、糖尿病患者や糖尿
病モデルマウスにおいて症状を改善する作用があること
が証明されている³⁾。サラシア属植物エキに含まれる
カテキン、マンジフェリンなどの成分は、抗肥満作用を
持つことでも知られている⁴⁾。また近年、サラシア属植
物に関する新発見も続々と明らかにされている^{5, 6)}。し
かし、現在までのところサラシア属植物エキスの糖尿病
や肥満以外の効果や生体での作用機序に関する知見は乏
しく、サラシア属植物エキに含まれる複数成分が及ぼ
している作用に関しても不明確なままである。

本研究では、糖吸収阻害の作用部位であり、吸収、異
物の排除など多様な機能を示す回腸におけるサラシア属
植物の生理機能を解明するため、サラシア属植物エキ
スをラットに投与し、マイクロアレイ法による遺伝子発
現分布測定と T-RFLP 法による腸内細菌叢のプロファイ
リングをおこなった。

*富士フイルム株式会社 R&D 統括本部 医薬品・ヘルスケア研究所

3. Materials and Methods

(1) サラシア属植物エキスパウダーの作製

スリランカで生育したサラシア属植物 (*Salacia reticulata*) の幹と根の部分を乾燥させて、チップ状にした。十分に乾燥させた後、チップを熱水にて1時間抽出した。チップを濾過して除去した後、液体を冷却し、スプレードライヤー ADL-310 (Yamato Science Co., Ltd., Tokyo, Japan) にてエキスを粉末化し、4℃で保存した。

(2) Animals

実験には、生後6週齢のオスの Sprague Dawley® ラット (SD ラット) (CLEA Japan, Inc., Shizuoka, Japan) を購入し、1週間の検疫馴化を行った。飼育条件は室温 23±2℃、相対湿度 50±10%、喚起回数 15 回/時間、人工照明 1 日 12 時間に設定して飼育を行った。試験動物には飼料として放射線滅菌済みの固形飼料 CRF-1 (Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo, Japan) を自由摂取させ、飲み水には、水道法水質基準に適合した水道水をフィルター濾過 (50 µm, 5 µm) (AION Co., Ltd., Osaka, Japan) 後、紫外線照射により殺菌したものを自動給水ノズルで与え、自由摂取とした。飼育1週間後、ラットをランダムに 10 匹ごとの群に分けた。サラシア属植物エキスパウダーを 80 mg/ml の濃度となるように注射用蒸留水 (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) に溶解し、サラシアエキスパウダー重量にして 20 mg/kg になるように金属性胃ゾンデを用いて強制経口胃内投与した。また、対照群に対しては、注射用蒸留水のみを投与した。1 日 1 回 13 週間反復投与を行い、投与最終日の夕刻から、16 時間の絶食を行い、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で採血を行った後、放血による安楽死をさせた。解剖では各臓器の重量測定及び状態観察を行った。ラットの回腸を摘出し、上皮細胞を剥離し、ISOGEN (NIPPON GENE Co., Ltd., Tokyo, Japan) 中で保存した。また、大腸下部から便を採取し、ドライアイスにて凍結保存した。

解剖時に後大静脈から採取した血液は、EDTA-2K を抗凝固剤として添加した後、生化学的検査を行った。

血液検査の項目は、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、網赤血球率 (Reti)、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、総蛋白濃度 (TP)、アル

ブミン濃度 (Alb)、A/G、トリグリセライド (TG)、総コレステロール (T-CHO)、尿素窒素濃度 (BUN)、クレアチン (Cre)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、AST 活性 (AST)、ALT 活性 (ALT)、CPK 活性 (CPK)、総ビリルビン (T-BIL)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl) である。WBC、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT、Reti に関しては、総合血液学検査装置 XT-2000iV (Sysmex Co., Ltd., Hyogo, Japan) を用いて測定した。また、PT、APTT は全自動血液凝固線溶測定装置 STA コンパクト (Roche Diagnostics K.K. Tokyo, Japan) を用い、TP、ALB、A/G、Glu、TG、T-CHO、BUN、Cre、Ca、IP、AST、ALT、GGT、ALP、CPK、T-Bil、Na、K、Cl は血液生化学自動分析装置 H 7070 (Hitachi Ltd, Tokyo, Japan) にて測定した。

各群の体重、臓器重量 (絶対重量及び相対重量) データ、血液生化学的検査データに関しては以下の検定を行った。

最初に F 検定で等分散検定を行い、Student's t-test により結果の有意差を確認した。組織は、10% 中性緩衝ホルマリン液中で保存、固定を行い、薄切標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を施し、光学顕微鏡による観察を行った。一般状態、病理解剖学的検査結果、病理組織学的検査結果については、検定を行わなかった。

尚、全ての動物実験は、富士フイルム動物実験委員会の審査、承認を得て行った。

(3) RNA 抽出および DNA マイクロアレイ解析

保存しておいたラットの回腸細胞から ISOGEN の定法に従い total RNA を抽出した後に、Rneasy Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) で、total RNA の精製を行った。サラシア属植物エキスパウダー投与群および対照群からそれぞれ体重が平均値に近い順に 4 個体を選び、その回腸由来の total RNA から cDNA の合成、cRNA の合成及び標識化、標識 cRNA の断片化は Affymetrix の kit を用い、Affymetrix のプロトコルに従って行った。また、RNA の質のチェックには、Agilent 2100 バイオアナライザ (Agilent Technologies Japan, Ltd., Tokyo, Japan) を用い、cRNA の伸張が十分であることを確認した。断片化した cRNA は Hybridization Oven 640 (Affymetrix Inc., CA, USA) を用いて GeneChip Rat Genome 230 2.0 Array (Affymetrix Inc., CA, USA) に 45℃で 16 時間ハ

イブリダイズし、洗浄、GeneChip[®] Fluidics Station 450 を行い、GeneChip[®] Scanner 3000 でスキャンし、遺伝子発現量の測定を行った。得られたデータを R version 2.7.2 と Bioconductor version 2.2 にて Distribution Free Weighted method (DFW 法) で正規化した後、二群間比較には RankProduct を実行し、発現変動が顕著なプローブセットとして、False Discovery Rate (FDR) <0.05 のプローブセットを抽出した^{7, 8, 9, 10, 11)}。

抽出したプローブセットを、機能ごとの階層構造として示すために、Gene Ontology (Bingo 2.3 (cytoscape 2.6)) (<http://www.cytoscape.org>) を参考に生物学的機能に応じて分類した^{12, 13)}。

(4) 腸内細菌叢解析 (T-RFLP 法)

ラット糞便を用いた腸内細菌叢解析は TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd. (Shizuoka, Japan) に委託し、T-RFLP 解析 (Nagashima 法) を用いた¹⁴⁾。以下に参考文献からの改変部分を記載する。

凍結された便を、GTC 緩衝液 (100mM Tris-HCl [pH 9.0], 40mM Tris-EDTA [pH8.0], 4M Guanidine Thiocyanate) に懸濁した。液中に添加した糞便をジルコニアビーズにより破碎し (回転速度 5 m/s、5 分間、FastPrep FP100A Instrument (MP Biomedicals, CA, USA)、100 μ l の懸濁液から自動核酸抽出装置 (Precision System Science, Chiba, Japan) を用いて DNA 抽出を行った。自動核酸抽出時の試薬は GC series Genomic DNA whole blood (Precision System Science, Chiba, Japan) を使用した。PCR に用いたプライマーは、516F の標識を参考文献に用いられていた HEX から FAM に変更した。PCR 産物の精製には、MultiScreen PCR μ 96 plate (Millipore, Billerica, MA, USA) を使用した。

フラグメント解析は、ABI PRISM 3130xl genetic analyzer (Applied Biosystems, CA, USA) で行い、解析ソフトウェアは Gene mapper (Applied Biosystems, CA, USA) を用いた。なお、サイズスタンダードマーカーには、MapMarkerR X-Rhodamine Labeled 50-1000bp (BIOVENTURES, TN, USA) を使用した。総面積ピークに対する各 OTU におけるピーク面積の比率を用い、階層的クラスター解析 (pvclust 関数を用いた) を行い、菌叢パターンの類似性比較を行った。

4. Result

(1) 生化学的検査値

今回、サラシア属植物エキス投与群 (20 mg/kg) と対照群において、13 週間連続投与後の両群における体重 (541.2 \pm 47.8 g vs 578.2 \pm 76.0 g)、血液生化学的検査 (WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, Reti, TP, ALB, A/G, Glu, TG, T-CHO, BUN, Cre, Ca, IP, AST, ALT, GGT, ALP, CPK, T-Bil, Na, K, Cl) に大きな差異は認められなかった。また全個体において、解剖時に脳、下垂体、胸腺、肺、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺 (腹葉) の重量測定をした後、肝臓を 10% 中性緩衝ホルマリン液中で固定し、薄切片標本にヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を施し、光学顕微鏡により観察を行った。

以上の試験の結果、今回の検討条件においては毒性と判断されるような変化は観察されなかった。

(2) マイクロアレイ解析

毒性を示す所見がないことを確認後、それぞれの群から、体重が平均値に近い順に 4 個体を選択し、マイクロアレイを行った。その結果、コントロール群に対し、サラシア群で発現が増加した 237、減少した 111 のプローブセットを抽出した。

(3) 発現増加した遺伝子

前述の解析によって得られた遺伝子オントロジーの結果を見ていくと、オリゴペプチド輸送系、防御応答、栄養レベルに対する反応、antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II に関わる遺伝子が濃縮されていることが明らかになった。発現増加遺伝子を詳細に見ていくと、多数の免疫関連遺伝子を含む生体防御関連遺伝子と、輸送や代謝に関わる遺伝子が多く発現増加していた (図 1)。

抗原認識を行う MHC class II 関連の遺伝子としては、Cathepsin E (Ctse), RT1 class II, locus Ba (RT1-Ba), HLA class II histocompatibility antigen, DM beta chain precursor (MHCclass II antigen DMb, Hla-dmb) の発現が上昇している¹⁵⁾。

また、生体防御 (免疫) に関連する遺伝子としては、tumor necrosis factor alpha (Tnf- α , Clusterin (Clu), Chemokine (C-C motif) ligand 5 (Ccl5, Rantes), Adenosine

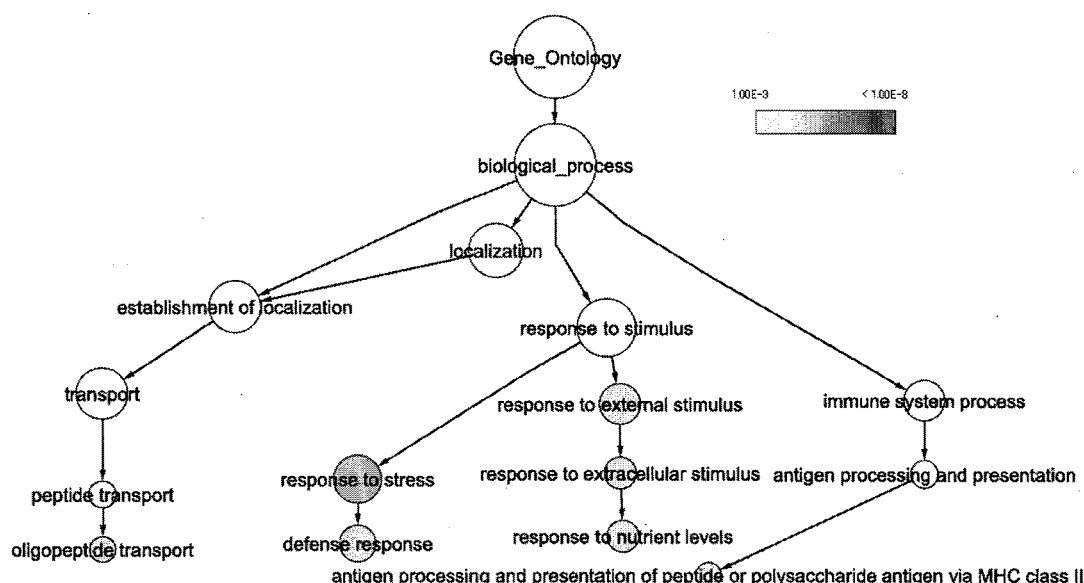


図 1 発現増加した 237 の遺伝子の中から、有意な Gene ontology category ($P < 0.001$) を抽出した。

Figure 1 Significant gene ontology categories ($P < 0.001$) were extracted from 237 genes showing increased expression.

deaminase (Ada)、Apolipoprotein A-IV (Apoa5)、Chemokine (C-X-C motif) receptor 4 (Cxcr4)、Apolipoprotein H (ApoH)、Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1 (Ms4a1)、Dipeptidyl-peptidase 4 (Dpp4, Cd26)、Protein tyrosine phosphatase (Ptpcr, Cd45)、T cell receptor beta locus (Tcrb)、Apoptotic peptidase activating factor 1 (Apaf1) などが変動していた。

コレステロール、ケトン体代謝系では 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2)、輸送系では Solute carrier family 15 (oligopeptide transporter), member 1 (Slc5a1) が発現増加していた (表 1)

(4) 発現減少した遺伝子

次に、発現減少した遺伝子には、Urea cycle, Lipid metabolic process が含まれていた。尿素サイクル関連の遺伝子は Arginase, type II (Arg2)、Ornithine carbamoyltransferase (Otc)、carbamoyl-phosphate synthase 1 (Cps1)、脂質の輸送や代謝に関わる peroxiredoxin 6 (Prdx6) や Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar- γ) が発現減少していた (図 2) (表 2)。

(5) 腸内細菌叢解析

遺伝子発現解析において、サラシア属植物エキスを投与

により回腸上皮の免疫関連遺伝子発現が増加していた。そこで、腸において免疫関連遺伝子の発現に影響を与えるとされる腸内細菌叢解析も合わせて行った。

解析には、解剖時に大腸下部から採取した糞便を用いた。大腸には培養困難な菌が多く存在するため、培養なしで腸内細菌の状態を正確に表すことが可能な解析法である T-RFLP 法を用いて、腸内細菌叢の構成比測定をおこなった。腸内細菌叢の構成比の数値を用い、『R』でクラスタリングを行い、系統樹を作成し、菌叢パターンの類似性比較を行った。その結果、投与群の腸内細菌叢は対照群のそれらとは異なったプロファイリングを示した (図 3)。

サラシア属植物エキス粉末投与群と対照群を比較したところ、対照群の腸内細菌叢は個体ごとに大きく異なり、系統樹の距離も離れて類似性が低かったのに対し、投与群では腸内細菌叢のプロファイルが類似しており、系統樹上の距離が非常に近くなり、バラバラであった腸内細菌叢がサラシア属植物摂取により類似してくることが明らかになった (図 4)。

また、菌門ごとに見ていくと、投与群において、ファーミキューテス門 (Firmicutes、フィルミクテス門、グラム陽性細菌門) (OTU: 106, 110, 168, 332, 338, 369, 423, 494, 505, 517, 520, 650, 657, 749, 754, 919, 940,

表 1 発現増加遺伝子 (P<0.001、Bingo を用いて GO category 抽出した)

Table 1 Genes showing increased expression (P<0.001, Gene ontology categories extracted using BiNGO)

[response to stress]		
Gene name	Definition	UniGene ID
Tnf	tumor necrosis factor	Rn.2275
Aldob	aldolase B	Rn.98207
Clu	clusterin	Rn.1780
Atp6v1g2	ATPase	Rn.158467
Abhd2	abhydrolase domain containing 2	Rn.136611
Sfn	stratifin	Rn.145079
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	Rn.25717
Ccl5	chemokine (C-C motif) ligand 5,	Rn.8019
Hla-dmb	major histocompatibility complex	Rn.5892
Ada	adenosine deaminase	Rn.12689
RT1-Aw2	RT1 class Ib, locus Aw2	Rn.40130
Apoa4	apolipoprotein A-IV	Rn.15739
RatNP-3b	rat neutrophil peptide-1	Rn.114810
Alb	albumin	Rn.202968
Cxcr4	chemokine (C-X-C motif) receptor 4	Rn.44431
Gsn	gelsolin	Rn.103770
ApoH	apolipoprotein H (beta-2-glycoprotein I)	Rn.1824
Ms4a1	membrane-spanning 4-domains	Rn.16385
Creb3l3	cAMP responsive element binding protein 3-like 3	Rn.20059
Cfd	complement factor D (adipsin)	Rn.16172
Dpp4	dipeptidyl-peptidase 4 (CD26)	Rn.91364
Car3	carbonic anhydrase 3	Rn.1647
Ptpcr	protein tyrosine phosphatase	Rn.90166
Bmp2	bone morphogenetic protein 2	Rn.90931
Si	sucrase-isomaltase	Rn.10057
Ephx2	Epoxide hydrolase2	Rn.54495
Tcrb	T cell receptor beta locus	Rn.34871
Adipoq	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Rn.24299
Defa-rs1	defensin alpha-related sequence 1	Rn.122020
Cyp4f5	cytochrome P450 4F5	Rn.10171
Abcc2	ATP-binding cassette	Rn.10265
Apaf1	apoptotic peptidase activating factor 1	Rn.64522
Prnp	prion protein	Rn.3936
Ta4sf4	transmembrane 4 L six family member 4	Rn.13425
[response to external stimulus]		
Gene name	Definition	UniGene ID
Suox	sulfite oxidase	Rn.25720
Bmp2	bone morphogenetic protein 2	Rn.90931
Tnf	tumor necrosis factor	Rn.2275
Si	sucrase-isomaltase	Rn.10057
Clu	clusterin	Rn.1780
Aldob	aldolase B	Rn.98207
Ephx2	Epoxide hydrolase2	Rn.54495
Abhd2	abhydrolase domain containing 2	Rn.136611
Ccl5	chemokine (C-C motif) ligand 5,	Rn.8019
Adipoq	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Rn.24299
Ada	adenosine deaminase	Rn.12689
Apoa4	apolipoprotein A-IV	Rn.15739
Coro1a	coronin	Rn.6990
Apoa1	apolipoprotein A-I	Rn.10308
Cyp4f5	cytochrome P450 4F5	Rn.10171
Hmgcs2	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2	Rn.29594
Gsn	gelsolin	Rn.103770
Alb	albumin	Rn.202968
Ms4a1	membrane-spanning 4-domains	Rn.16385
ApoH	apolipoprotein H (beta-2-glycoprotein I)	Rn.1824
Cfd	complement factor D (adipsin)	Rn.16172
Tm4sf4	transmembrane 4 L six family member 4	Rn.13425
Smpd2	sphingomyelin phosphodiesterase 2	Rn.18572

【defense response】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Ptprc	protein tyrosine phosphatase	Rn.90166
Bmp2	bone morphogenetic protein 2	Rn.90931
Tnf	tumor necrosis factor	Rn.2275
Ephx2	Epoxide hydrolase2	Rn.54495
Tcrb	T cell receptor beta locus	Rn.34871
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	Rn.25717
Ccl5	chemokine (C-C motif) ligand 5,	Rn.8019
Hla-dmb	major histocompatibility complex	Rn.5892
Defa-rs1	defensin alpha-related sequence 1	Rn.122020
Ratnp-3b	rat neutrophil peptide-1	Rn.114810
Apoa4	apolipoprotein A-IV	Rn.15739
Cyp4f5	cytochrome P450 4F5	Rn.10171
Ms4a1	membrane-spanning 4-domains	Rn.16385
Apaf1	apoptotic peptidase activating factor 1	Rn.64522
Cfd	complement factor D (adipsin)	Rn.16172
【response to nutrient levels】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Apoa4	apolipoprotein A-IV	Rn.15739
Suox	sulfite oxidase	Rn.25720
Bmp2	bone morphogenetic protein 2	Rn.90931
Apoa1	apolipoprotein A-I	Rn.10308
Hmgcs2	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2	Rn.29594
Gsn	gelsolin	Rn.103770
Alb	albumin	Rn.202968
Si	sucrase-isomaltase	Rn.10057
Aldob	aldolase B	Rn.98207
Adipoq	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Rn.24299
Ada	adenosine deaminase	Rn.12689
【oligopeptide transport】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Slc15a1	solute carrier family 15 (oligopeptide transporter)	Rn.10500
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	Rn.25717
Hla-dmb	major histocompatibility complex	Rn.5892
【response to extracellular stimulus】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Apoa4	apolipoprotein A-IV	Rn.15739
Suox	sulfite oxidase	Rn.25720
Bmp2	bone morphogenetic protein 2	Rn.90931
Apoa1	apolipoprotein A-I	Rn.10308
Hmgcs2	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2	Rn.29594
Gsn	gelsolin	Rn.103770
Alb	albumin	Rn.202968
Si	sucrase-isomaltase	Rn.10057
Aldob	aldolase B	Rn.98207
Adipoq	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Rn.24299
Ada	adenosine deaminase	Rn.12689
【antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Ctse	cathepsin E	Rn.92738
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	Rn.25717
Hla-dmb	major histocompatibility complex	Rn.5892

955, 990) の割合が有意に減少し、バクテロイデス門 (Bacteroidetes) (OTU: 366, 469, 853) の割合が有意に増加していることが明らかになった (図 5)。以上の結

果から、サラシア属植物エキスの投与により、免疫関連遺伝子の遺伝子発現だけでなく、腸内細菌叢にも変化が起きていることが明らかになった。

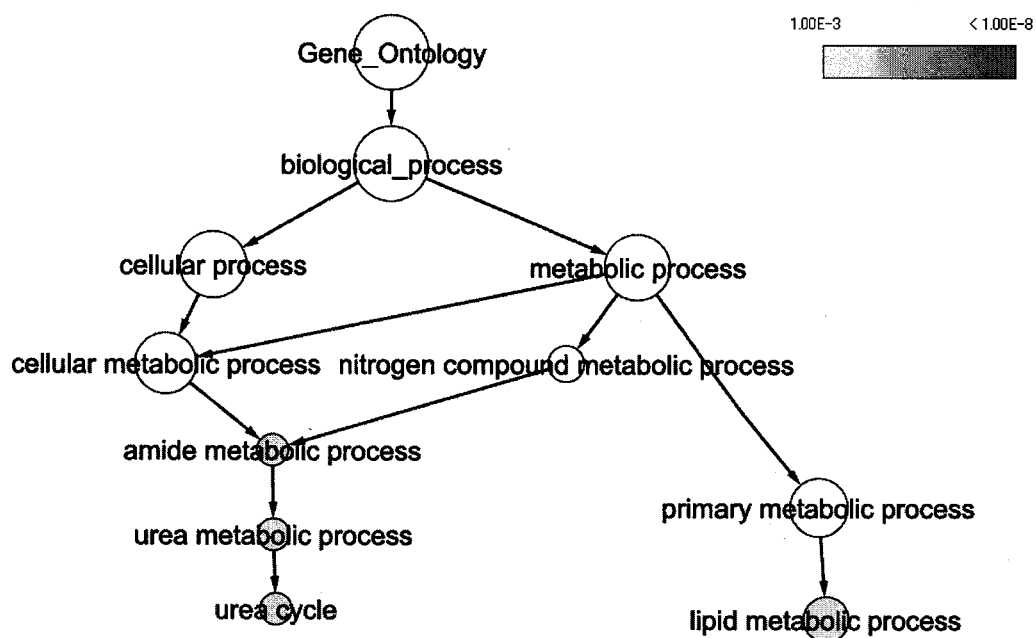


図 2 発現減少した 113 の遺伝子の中から、有意な Gene ontology category ($P<0.001$) を抽出した。

Figure 2 Significant gene ontology categories ($P<0.001$) were extracted from 113 genes showing decreased expression.

表 2 発現減少遺伝子 ($P<0.001$, Bingo を用いて GO category 抽出した)
Table 2 Genes showing decreased expression ($P<0.001$, Gene ontology categories extracted using BiNGO)

【urea cycle】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Arg2	arginase	Rn.11055
Otc	ornithine carbamoyltransferase	Rn.2391
Cps1	carbamoyl-phosphate synthase 1	Rn.53968
【urea matabolic process】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Arg2	arginase	Rn.11055
Otc	ornithine carbamoyltransferase	Rn.2391
Cps1	carbamoyl-phosphate synthase 1	Rn.53968
【amide metabolic process】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Arg2	arginase	Rn.11055
Otc	ornithine carbamoyltransferase	Rn.2391
Cps1	carbamoyl-phosphate synthase 1	Rn.53968
【lipid metabolic process】		
Gene name	Definition	UniGene ID
Phlpb	phospholipase B	Rn.91079
Cubn	cubilin (intrinsic factor-cobalamin receptor)	Rn.3236
Hsd3b6	hydroxy- δ -5-steroid dehydrogenase, 3 β - and steroid del	Rn.109394
Prdx6	peroxiredoxin 6	Rn.42
Pparg	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	Rn.23443
Hsd11b2	hydroxysteroid (11- β) dehydrogenase 2	Rn.10186
Aldh1a7	aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A7	Rn.74044
Srd5a1	steroid-5- α -reductase	Rn.4620
Comt	catechol-O-methyltransferase	Rn.220
Pcca	propionyl Coenzyme A carboxylase	Rn.6033
Pck1	phosphoenolpyruvate carboxykinase 1	Rn.104376

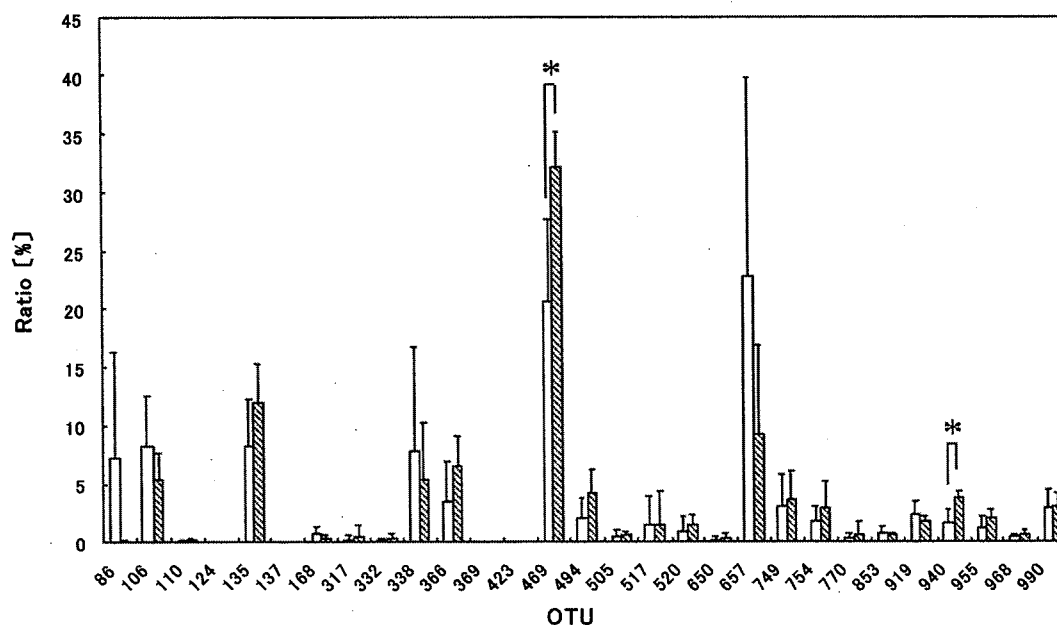


図 3 糞便を T-RFLP (Nagashima) 法にて測定し、腸内細菌叢の構成比を OTU ごとに示した。□が Control、▨は Treated。* $p < 0.05$

Figure 3 Fecal specimens were analyzed by T-RFLP (Nagashima method) and presented as the intestinal bacterial flora composition by OTU.

□ : Control ▨ : Treated * $p < 0.05$

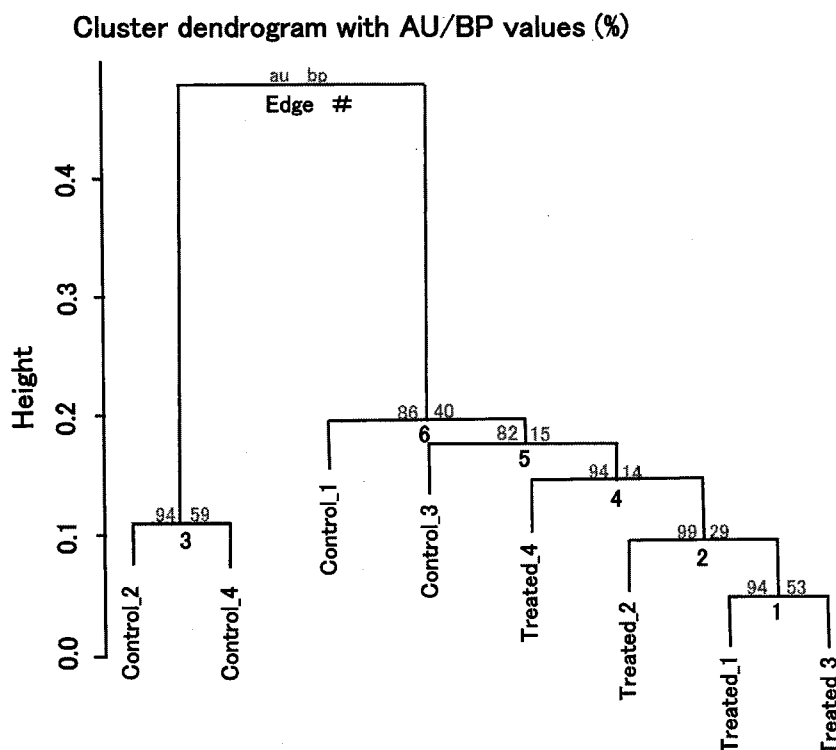


図 4 T-RFLP (Nagashima) 法にて測定した腸内細菌叢の構成比の結果より、クラスター解析を行い、系統樹の作成を行った。(au=Approximately Unbiased, bp=Bootstrap Probability)

Figure 4 Cluster analysis was performed on the intestinal bacterial flora composition data determined by T-RFLP analysis (Nagashima method) to construct a phylogenetic tree. (au=Approximately Unbiased, bp=Bootstrap Probability)

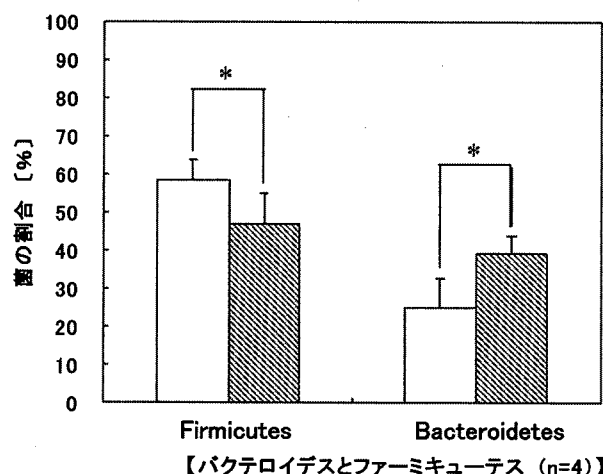


図 5 ラット糞便の腸内細菌叢を 100%としたときの、バクテロイデス門とファーミキューテス門の構成比率の変化を示した。□が Control、▨は Treated。* $p < 0.05$

Figure 5 Proportions of Bacteroidetes and Firmicutes relative to the entire intestinal flora population in the fecesia extract administration. □: Control ▨: Treated * $p < 0.05$

5. Discussion

サラシア属植物は従来から多くの機能を持つことが知られていたが、腸管におけるサラシア属植物の生理機能を解明するため、本研究を行った。その結果、回腸上皮において多くの遺伝子の発現が変化し、腸管でもサラシア属植物は多機能を有することが明らかになった。その中でも、免疫関連の遺伝子発現量変化は、本研究により初めて示されたものであり、その作用も非常に顕著であったため、これ以降サラシアの免疫機能に着目して議論を行う。

遺伝子発現解析の結果から得られた発現上昇した遺伝子を詳細に検討していくと、異物認識や免疫機構、生体防御に関わる遺伝子、特に Th1 細胞関連遺伝子が多く含まれていることが分かった。具体的には、アレルギーなどを引き起こす IgE の産生を抑制するといわれている Ptpcr (Cd45)¹⁶⁾ や、細胞性免疫に寄与する Th1 細胞関連遺伝子 Cd26 (Dpp4)¹⁷⁾、様々な菌やインフルエンザを含むウイルスなど病原体の進入を食い止め、アレルギー抑制作用を持つ IgG2a¹⁸⁾、MHC class II 関連の遺伝子であった。発現増加した遺伝子を用いて、図のような作用が Th1 細胞周辺で起きているのではないかと推測した¹⁹⁾ (図 6)。

また、以前、我々が行った検討では、サラシア属植物エキスには腸内の腐敗産物やアンモニアを減少させる効果があることが明らかになっている。つまり、サラシア属植物エキス摂取により、腸内アンモニアが減少し、小腸上皮の尿素サイクル関連遺伝子発現の減少 (Cps1, Arg2, Otc) が起こったと考えている²⁰⁾

菌体及びその成分が、腸管免疫に深く関わりとされる腸内細菌叢の解析では、個体間でバラバラであった腸内細菌叢のパターンがサラシア属植物エキス投与により変化し、似通ってくる傾向が得られた。サラシア属植物エキス投与により菌の比率が増加したバクテロイデスは、免疫亢進作用が着目されている菌であり、従来から免疫賦活作用が指摘されてきた乳酸菌よりも強い免疫機能を示し、IgA や生体防御に関わるサイトカインの産生量を増加させることが明らかになっている^{21, 22)}。今回の実験において、特に割合増加が見られたバクテロイデスの OTU (operational taxonomic unit) が 2 つあったが (OTU: 366, 469)、クローニングで得られた塩基配列から相同性を検討した結果、この 2 つには特に免疫賦活効果の高いバクテロイデスのひとつである *Bacteroides acidofaciens* が含まれている可能性が高い。また、バクテロイデスの細胞壁に存在する LPS も免疫賦活効果が示されている²³⁾。

以上のことから、サラシア属植物エキスは、腸内細菌叢に変化を与え、変化した腸内細菌叢が、小腸下部の腸管免疫系に働きかけることが示唆された。本研究において、輸送や代謝関連の遺伝子が多く発現変化していたが、これは肝臓の働きにも連動する遺伝子であり、今後検討を行っていきたい。

また、今回検討に用いたラットはヒトにおいて大量に存在するビフィズス菌が存在しなかったため、一概にこの結果をヒトに置き換えることは出来ない²⁴⁾。しかし、ヒトにおいても腸内細菌叢の変化を通じて、免疫機能に働きかける可能性は十分に考えられる。

サラシア属植物はアーユルヴェーダにおいて長年使用されてきたがその機能に関しては、未だ不明な部分が多い。しかし、今回明らかになった腸管免疫を通じた生体調節は、サラシア属植物エキスが改善するといわれている疾病の多くに影響を与えるものであることから、サラシア属植物エキスの機能の一部を明らかにしたと確信している。

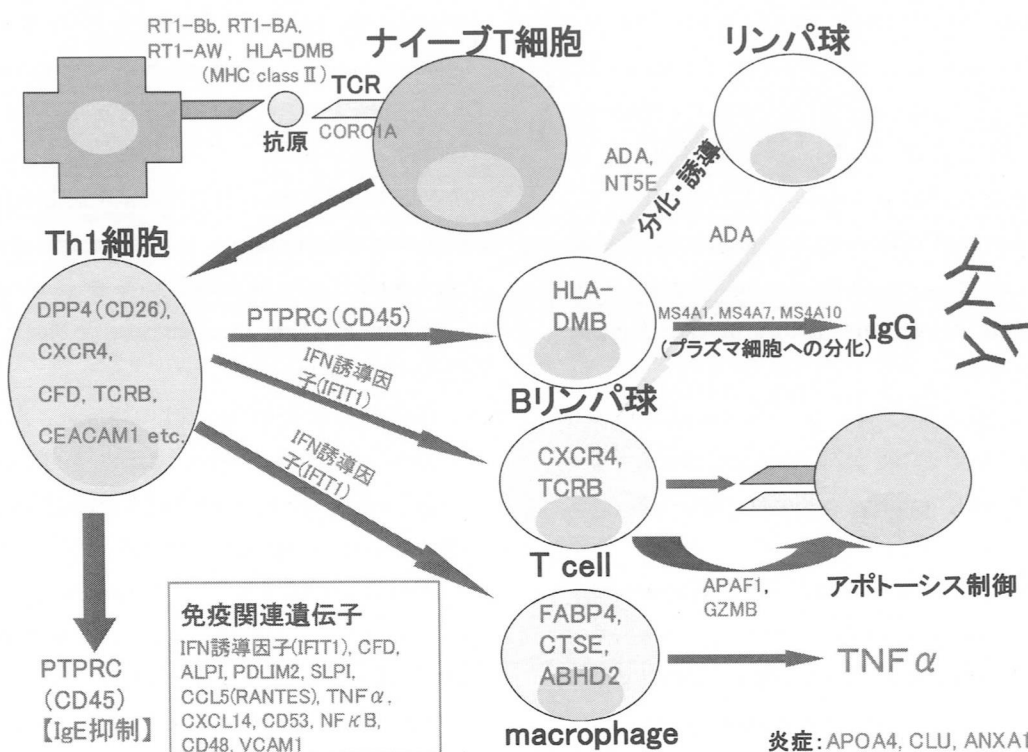


図 6 遺伝子発現が増加した遺伝子から推測した Th1 細胞とそれに関連する作用（赤字は Table に載せた遺伝子、黒字は BINGO による機能分類には使われなかったが、発現増加した 237 に含まれる遺伝子）

Figure 6 Possible mechanism of action speculated from the genes identified as showing increased expressions in the vicinity of Th1 cells (genes listed in Table 1 are shown in red, genes identified among the 237 genes showing increased expression but not used in the functional categorization by BINGO are presented in black).

<参考文献>

- 1) Yoshikawa, M.; Shimoda, H.; Nishida, N.; Takada, M.; Matsuda, H. *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats. *J. Nutr.*, **132**, 1819-24 (2002)
- 2) Matsuura, T.; Yoshikawa, Y.; Masui, H.; Sano, M. Suppression of Glucose Absorption by Various Teas in Rats. *YAKUGAKU ZASSHI*, **124**, 217-223 (2004).
- 3) Im, R.; Mano, H.; Matsuura, T.; Nakatani, S.; Shimizu, J.; Wada, M. Mechanisms of blood glucose-lowering effect of aqueous extract from stems of *Kothala himbutu* (*Salacia reticulata*) in the mouse. *J. Ethnopharmacol.*, **121**, 234-40 (2009)
- 4) Nair, P. S.; Shyamala, Davi, C. S. Efficacy of mangiferin on serum and heart tissue lipids in rats subjected to isoproterenol induced cardiotoxicity. *Toxicology*, **228**, 135-9 (2006)
- 5) Muraoka, O.; Ying, Y.; Yoshikai, K.; Matsuura, Y.; Yamada, E.; Minematsu, T.; Tanabe, G.; Matsuda, H.; Yoshikawa, M. Synthesis of a nitrogen analogue of salacinol and its alpha-glucosidase inhibitory activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1503-5 (2001)
- 6) Im, R.; Mano, H.; Nakatani, S.; Shimizu J.; Wada, M. Safety evaluation of the aqueous extract *Kothala himbutu* (*Salacia reticulata*) stem in the hepatic gene expression profile of normal mice using DNA microarrays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3075-83 (2008)
- 7) R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2006)

- 8) Gentleman, R. C.; Carey, V. J.; Bates, D. M.; Bolstad, B.; Dettling, M.; Dudoit, S.; Ellis, B.; Gautier, L.; Ge, Y.; Gentry, J.; Hornik, K.; Hothorn, T.; Huber, W.; Iacus, S.; Irizarry, R.; Leisch, F.; Li, C.; Maechler, M.; Rossini, A. J.; Sawitzki, G.; Smith, C.; Smyth, G.; Tierney, L.; Yang, J. Y.; Zhang, J. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biol.*, **5**, R80 (2004)
- 9) Chen, Z.; McGee, M.; Liu, Q.; Scheuermann, R.H. A distribution free summarization method for Affymetrix GeneChip arrays. *Bioinformatics.*, **23**, 321-27 (2007)
- 10) Breitling, R.; Armengaud, P.; Amtmann, A.; Herzyk, P. Rank products: a simple, yet powerful, new method to detect differentially regulated genes in replicated microarray experiments. *FEBS Lett.*, **573**, 83-92 (2004)
- 11) Motoyama, K.; Nakai, Y.; Miyashita, T.; Fukui, Y.; Morita, M.; Sanmiya, K.; Sakakibara, H.; Matsumoto, I.; Abe, K.; Yakabe, T.; Yajima, N.; Shimoi, K. Isolation stress for 30 days alters hepatic gene expression profiles, especially with reference to lipid metabolism in mice. *Physiol. Genomics*, **37**, 79-87 (2009)
- 12) Shannon, P.; Markiel, A.; Ozier, O.; Baliga, N.S.; Wang, J.T.; Ramage, D.; Amin, N.; Schwikowski, B.; Ideker, T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.*, **13**, 2498-504 (2003)
- 13) Maere, S.; Heymans, K.; Kuiper, M. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics.*, **21**, 3448-9 (2005)
- 14) Nagashima, K.; Mochizuki, J.; Hisada, T.; Suzuki, S.; Shimomura, K. Phylogenetic Analysis of 16S Ribosomal RNA Gene Sequences from Human Fecal Microbiota and Improved Utility of Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profiling. *Biosci. Microflora.*, **25**, 99-107 (2006)
- 15) Renard, C.; Hart, E.; Sehra, H.; Beasley, H.; Coghill, P.; Howe, K.; Harrow, J.; Gilbert, J.; Sims, S.; Rogers, J.; Ando, A.; Shigenari, A.; Shiina, T.; Inoko, H.; Chardon, P.; Beck, S. The genomic sequence and analysis of the swine major histocompatibility complex. *Genomics*, **88**, 96-110 (2006)
- 16) Yamada, T.; Zhu, D.; Saxon, A.; Zhang, K. CD45 controls interleukin-4-mediated IgE class switch recombination in human B cells through its function as a Janus kinase phosphatase. *J. Biol. Chem.*, **277**, 28830-5 (2002)
- 17) Hoshimoto, K.; Ohta, N.; Ohkura, T.; Inaba, N. Changes in plasma soluble CD26 and CD30 during pregnancy: markers of Th1/Th2 balance? *Gyneco. Obstet. Invest.*, **50**, 260-3 (2000)
- 18) Hovden, A. O.; Cox, R. J.; Haaheim, L. R. Whole influenza virus vaccine is more immunogenic than split influenza virus vaccine and induces primarily an IgG2a response in BALB/c mice. *Scand. J. Immunol.*, **62**, 36-44 (2005)
- 19) Umesaki, Y.; Okada, Y.; Matsumoto, S.; Imaoka, A.; Setoyama, H. Segmented filamentous bacteria are indigenous intestinal bacteria that activate intraepithelial lymphocytes and induce MHC class II molecules and fucosyl asialo GM1 glycolipids on the small intestinal epithelial cells in the ex-germ-free mouse. *Microbiol. Immunol.*, **39**, 555-62 (1995)
- 20) Mouille, B.; Robert, V.; Blachier, F. Adaptive increase of ornithine production and decrease of ammonia metabolism in rat colonocytes after hyperproteic diet ingestion. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.*, **287**, G344-351 (2004)
- 21) Tsuda, M.; Hosono, A.; Yanagibashi, T.; Hachimura, S.; Hirayama, K.; Itoh, K.; Takahashi, K.; Kaminogawa, S. Prior stimulation of antigen-presenting cells with Lactobacillus regulates excessive antigen-specific cytokine responses in vitro when compared with Bacteroides. *Cytotechnology*, **55**, 89-101 (2007)
- 22) Yanagibashi, T.; Hosono, A.; Oyama, A.; Tsuda, M.; Hachimura, S.; Takahashi, Y.; Itoh, K.; Hirayama, K.; Takahashi, K.; Kaminogawa, S. Bacteroides induce higher IgA production than Lactobacillus by increasing activation-induced cytidine deaminase

expression in B cells in murine Peyer's patches.

Biosci. Biotechnol. Biochem., **73**, 372-7 (2009)

- 23) Humphries, H. E.; Triantafilou, M.; Makepeace, B. L.; Heckels, J. E.; Triantafilou, K.; Christodoulides, M. Activation of human meningeal cells is modulated by lipopolysaccharide (LPS) and non-LPS components of *Neisseria meningitidis* and is independent of Toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2 signalling. *Cell Microbiol.*, **7**, 415-30 (2005)
- 24) Bouhnik, Y.; Raskine, L.; Simoneau, G.; Paineau, D.; Bornet, F. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr. J.*, **28**, 5-8 (2006)

■アンチエイジングと機能性食品因子

柿果皮抽出物を投与した 2 型糖尿病 GK ラットの肝臓における insulin signaling pathway 関連遺伝子の発現変化

井土 良一*

1. 背景と目的

柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) は中国、韓国、日本など東アジアだけでなく、今や世界各地で栽培されるようになった果樹である。果実はビタミン、ミネラル、カロテノイド、ポリフェノールなどを含むが、その濃度は果肉部より果皮の方が高いことが知られている。しかし、干し柿製造などで生じる大量の果皮は未利用のまま廃棄されている。我々は果皮に含まれる成分がヒトの健康増進に寄与できると考え、その有効利用について研究を行っている。

果皮は固くて食べにくく、加熱加工によって干し柿臭が強くなる問題もあり、そのままでは利用しにくい。ため、抽出物での利用を検討した。脂溶性粗抽出物 (PPE) を調製し、成分を調べたところ、 β -クリプトキサンチン含量が 13.4 mg/g と豊富であった。ポリフェノールではケルセチンがアグリコン型換算で 2.6 mg/g と最も多く含まれていた¹⁾。 β -クリプトキサンチン^{2, 3)} やケルセチン^{4, 5)} は糖尿病症状を緩和する効果が報告されている。そこで、PPE による糖尿病予防・改善を期待し、その摂取効果を調査した。

2. 実験方法と結果

(1) PPE 投与による血漿 ALT 活性の変化と肝臓への β -クリプトキサンチンの蓄積

PPE の糖尿病に対する効果を調べるために、やせ型の 2 型糖尿病モデルである Goto-Kakizaki (GK) ラットを、普通飼料 (AIN-93G) 投与群 (ND) と PPE (37.3

mg/kg ; β -クリプトキサンチン 0.5mg/kg) 添加飼料投与群 (PD) に分け、自由摂取にて 12 週間の投与試験を行った。飼育中は体重、摂餌量を測定し、投与終了後に血漿および肝臓を採取した。

PD と ND の体重、摂餌量、血糖値および血漿インスリン値に差はなかった。しかし、肝細胞の損傷マーカーである血漿 ALT 活性が ND よりも PD で有意に低く (図 1)、さらに PD 群の肝臓にのみ β -クリプトキサンチンの蓄積がみられた (図 2)。これらの結果から、肝臓の状態に変化が起こっていると考え、遺伝子発現解析によって PPE 投与の影響を明らかにすることとした。

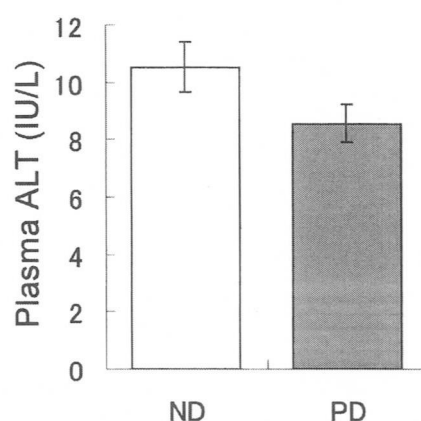


図 1 2 群間における血漿 ALT 活性の違い (n=7/ 群)
Figure 1 Difference of plasma ALT activity between two groups (n=7/group)

(2) PPE 投与における肝臓の遺伝子発現変動

DNA マイクロアレイを用いて両群の肝臓における遺伝子発現を比較したところ、PD では 937 個の遺伝子が発現増加、1,263 個の遺伝子が発現減少していることが

*公益財団法人 東洋食品研究所 食品資源研究室

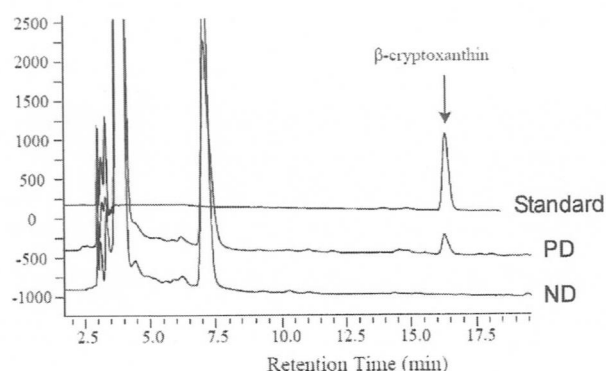


図2 両群の肝臓における β -クリプトキサンチンのHPLCクロマトグラム（検出波長：450nm）

Figure 2 HPLC chromatograms of β -cryptoxanthin in the livers of two groups
 Detection wavelength is 450 nm

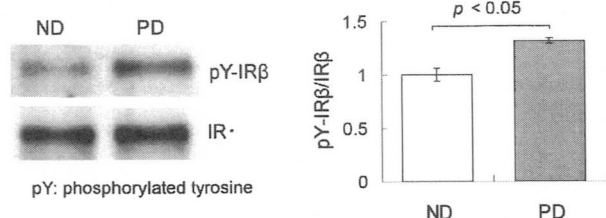


図3 インスリン受容体 β サブユニット ($IR\beta$) のチロシンリン酸化の変化

Figure 3 Change in tyrosine-phosphorylation of insulin receptor β subunit ($IR\beta$)

分かった。これらの遺伝子に対して DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) を用いた gene-enrichment 解析を行ったところ、糖尿病に関わる insulin signaling pathway 関連遺伝子（発現増加遺伝子 14 個、発現減少遺伝子 19 個）が多く含まれていた。特に、発現増加遺伝子には解糖 (*Gk*, *Pyk*, *Pfk*)、脂肪酸合成 (*Fas*, *Acc*)、発現減少遺伝子には糖新生 (*G6Pase*)、 β -酸化 (*Cpt1*) 関連遺伝子が含まれていた。これは組織がインスリンに応答したときの発現パターンと同じであり、PPE 投与は insulin signaling pathway を活性化することが示唆された。

(3) PPE 投与によるインスリン受容体 β の活性化

次に、insulin signaling pathway が活性化しているかどうかを調べるために、インスリン受容体 β サブユニッ

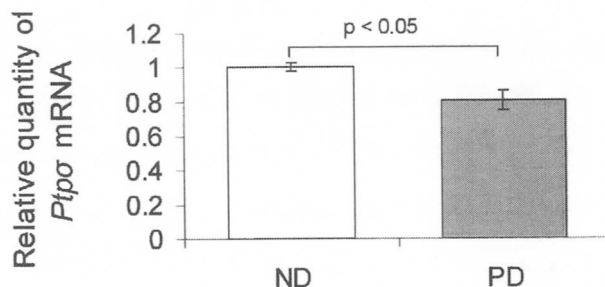


図4 GK ラット肝臓における $Ptp\sigma$ mRNA の発現量の違い

Figure 4 Difference between two groups about expression quantity of $Ptp\sigma$ mRNA in the liver of GK rats

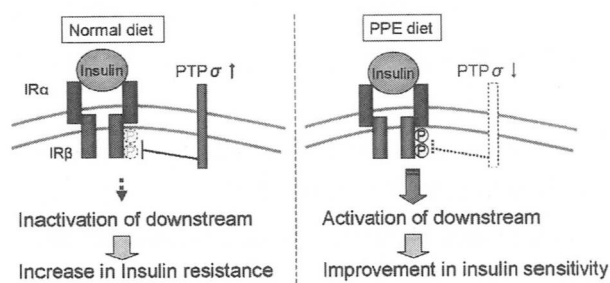


図5 GK ラット肝臓における $IR\beta$ 活性化メカニズムの仮説

Figure 5 Hypothesis about $IR\beta$ activation in the liver of GK rat by intake of PPE

ト ($IR\beta$) のチロシンリン酸化状態を調べた。その結果、2 群間の $IR\beta$ タンパク質の発現量に差はなかったが、 $IR\beta$ のリン酸化チロシン量は PD の方が多いことが分かった (図3)。この結果は、PPE 投与によって $IR\beta$ が活性化していることを示しており、insulin signaling pathway 下流で起こる遺伝子発現の変化は、 $IR\beta$ の活性化に起因する可能性が示唆された。

(4) $IR\beta$ 活性化と PTP σ (Protein tyrosine phosphatase sigma) の関係

PPE 投与による $IR\beta$ の活性化はどのように起こっているのかを検討した。遺伝子発現解析より、PD で $Ptp\sigma$ も発現減少していることも分かった (図4)。PTP σ は、 $IR\beta$ のチロシンリン酸化を抑制すること⁶⁾、GK ラットの肝臓では通常ラットよりも発現が増加していること⁷⁾、

欠損マウスではインスリン感受性が増加すること⁸⁾が報告されている。PD でみられた肝臓の *Ptp* の発現低下は IR β を活性化し、インスリン感受性を高めることで、下流因子の発現を調節していると考えられる (図 5)。今後、この仮説の検証も含め PPE 投与による IR β の活性化メカニズムを調査したいと考えている。

3. 結論

本研究で我々は、PPE の摂取は IR β を活性化し、insulin signaling pathway 関連遺伝子の発現を変化させて、インスリン感受性を高める可能性があることを示した。柿果皮は糖尿病を予防するのに役立つ食品素材となるかもしれない。

＜参考文献＞

- 1) R. Izuchi, H. Takahashi, Y. Inada, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 12, 2793-2795 (2009)
- 2) S. Uchiyama, M. Yamaguchi, *Biol. Pharm. Bull.* 28, 9, 1766-1769 (2005)
- 3) M. Sugiura, K. Ogawa, M. Yano, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70, 1, 293-295 (2006)
- 4) M. Kobori, S. Masumoto, Y. Akimoto, Y. Takahashi, *Mol. Nutr. Food Res.* 53, 7, 859-868 (2009)
- 5) J. H. Kim, M. J. Kang, H. N. Choi, S. M. Jeong, Y. M. Lee, J. I. Kim, *Nutr. Res. Pract* 5, 2, 107-111 (2011)
- 6) W. R. Zhang, N. Hashimoto, F. Ahmad, W. Ding, B. J. Goldstein, *Biochem. J.* 302 (Pt 1), 39-47 (1994)
- 7) C. G. Ostenson, A. C. Sandberg-Nordqvist, J. Chen, M. Hallbrink, D. Rotin, U. Langel, S. Efendic, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291, 4, 945-950 (2002)
- 8) M. J. Chagnon, M. Elchebly, N. Uetani, L. Dombrowski, A. Cheng, R. A. Mooney, A. Marette, M. L. Tremblay, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84, 7, 755-763 (2006)

■アンチエイジングと機能性食品因子

マウスにおけるトマト摂取が 肝臓の糖および脂質代謝に与える影響について¹⁾

相澤 宏一*

1. 緒言

野菜には様々な栄養素やファイトケミカルが含まれており、循環器系疾患や糖尿病などの慢性疾患の予防に有効であることが知られている。その中でも、トマト (*Lycopersicon esculentum*) やトマト加工品の摂取は、慢性疾患のリスク低減に関係することがこれまでの多くの研究により明らかになっている。トマトの赤色色素であるリコピンやその他の成分は、様々なメカニズムを経てそれぞれの効果を示すと考えられているが、遺伝子レベルで完全に解明されているものは少ない。DNA マイクロアレイは、膨大な数の遺伝子発現を同時にかつ網羅的に分析することを可能とする分析方法である。そこで DNA マイクロアレイを用いて、正常なマウスにトマトを摂取させた際の肝臓の遺伝子発現の変化を網羅的に評価した。

2. 方法

市販の無塩トマトジュース（カゴメ社製）を蒸留水にて 1:1 (v/v) に希釈し、試験用のトマトジュース希釈物 (TB) とした。

3 週齢の雌性 Balb/c マウスを 1 週間の予備飼育後に体重が均等になるように 2 つの群に分け ($n = 6$)、コントロール群 (Cont 群) には蒸留水、トマト摂取群 (TB 群) にはトマトジュースの希釈物を 6 週間継続して自由飲用させた。飼料はすべての群で通常飼料を自由摂取させた。なお本試験は、動物取り扱い指針に準じて実施した。

6 週間の試験終了後、ジエチルエーテル麻酔下で採血と肝臓の摘出を行なった。摘出した肝臓は直ちに -80°C で凍結保存した。得られた血液は市販のキットを用い、血糖値、総コレステロール濃度、トリグリセリド濃度、HDL-コレステロール濃度、インスリン濃度、アディポネクチン濃度を分析した。測定値は one-way ANOVA にて分析を行なった後、Dunnett の多重比較を事後検定法として用い、危険率 5% 未満で差が認められた場合に両群間に統計的に有意な差があるとした。

マイクロアレイ分析のために、肝臓より定法により RNA を抽出、精製した。DNA マイクロアレイ分析は、43,000 種の遺伝子が固定化されたアフィメトリクス社製 mouse genome 430 2.0 アレイを用いた。蛍光シグナルの正規化は、q.FARMS 法²⁾ によって、“R” および Bioconductor を使用して行なった。階層的クラスター解析は、“R” の pvclust 機能を用いて実施した。群間での各遺伝子の発現レベルの比較は、ノンパラメトリックな解析手法である Rank product 法 (RP)³⁾ を用い、FDR (False Discovery Rate) が 0.05 以下の場合を遺伝子発現レベルに差があるとした。それぞれの群で発現が変化した遺伝子群を Gene Ontology (GO) を基に機能別カテゴリーに分別するにあたっては、ウェブサイトから入手可能なプログラム DAVID を使用した。

3. 結果および考察

試験終了時の各グループの代謝に関連するマーカーを表 1 に示した。すべてのマウスは、試験期間を通じほぼ同重量の飼料および試験飲料 (水、TB) を摂取していた。

*カゴメ株式会社総合研究所

表 1 試験飲料を摂取したマウスの代謝に関連するマーカーの変化^a
Table 1 Metabolic parameters of mice given the experimental beverages^a

	Cont	TB
beverage or water intake (g/day)	6.59 ± 0.53	6.45 ± 0.40
initial body weight ^b (g)	10.56 ± 0.28	10.21 ± 0.18
halfway body weight ^c (g)	18.11 ± 0.21	17.25 ± 0.26
final body weight ^d (g)	20.23 ± 0.11	17.00 ± 0.42**
relative liver weight (g/100g of BW)	4.75 ± 0.05	4.25 ± 0.09**
blood glucose (mg/dL)	124.0 ± 9.1	93.8 ± 9.6
plasma insulin (ng/mL)	0.40 ± 0.22	0.39 ± 0.20
plasma lipids		
total cholesterol (mg/dL)	110.6 ± 4.0	119.9 ± 6.7
triglyceride (mg/dL)	163.7 ± 9.4	161.5 ± 10.4
HDL-cholesterol (mg/dL)	58.5 ± 2.4	67.8 ± 2.1
plasma adiponectin (mg/mL)	33.9 ± 1.2	35.5 ± 2.7

^a値は平均±標準誤差で示した(n=6)。*および**はコントロール群(Cont)と比較して、それぞれ $P < 0.05$, $P < 0.01$ で有意差があることを示した(Dunnettの多重比較検定)。

^b試験開始時の体重。^c試験開始後3週間目の体重。

^d試験開始後6週間目の体重。

^aValues are means ± SEM, $n=6$. * and ** indicate differences from the Control group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ by Dunnett's multiple comparison test.

^bInitial body weight was measured before starting dietary protocols.

^cHalfway body weight was measured after administering the experimental beverages for 3 weeks.

^dFinal body weight was measured administering the experimental beverages for 6 weeks.

表 2 トマト摂取で発現が有意に増加した 687 の遺伝子の GO (Gene Ontology) による機能別カテゴリー ($P < 0.05$)

Table 2 Significantly enriched GO terms found in 687 Up-regulated genes by tomato beverage ingestion ($P < 0.05$)

GO-ID	GO term	No. of genes	FDR-corrected P -value
0006457	protein folding	27	7.02E-06
0006091	generation of precursor metabolites and energy	41	2.16E-04
0006629	lipid metabolic process	43	1.11E-03
0044255	cellular lipid metabolic process	38	2.43E-03
0006638	neutral lipid metabolic process	9	1.15E-03
0046486	glycerolipid metabolic process	9	1.16E-03
0006639	acylglycerol metabolic process	9	1.15E-03
0006641	triacylglycerol metabolic process	8	1.12E-03
0006662	glycerol ether metabolic process	9	1.15E-03
0006082	organic acid metabolic process	38	1.73E-03
0019752	carboxylic acid metabolic process	37	1.20E-03
0032787	monocarboxylic acid metabolic process	22	2.70E-03
0051789	response to protein stimulus	13	1.39E-03
0006986	response to unfolded protein	13	1.39E-03
0006066	cellular alcohol metabolic process	23	2.11E-02

表 3 トマト摂取で発現が有意に減少した 841 の遺伝子の GO (Gene Ontology) による機能別カテゴリー ($P < 0.05$)

Table 3 Significantly enriched GO terms found in 841 Down-regulated genes by tomato beverage ingestion ($P < 0.05$)

GO-ID	GO term	No. of genes	FDR-corrected P -value
0006629	lipid metabolic process	72	5.84E-11
0008610	lipid biosynthetic process	38	1.76E-08
0006694	steroid biosynthetic process	24	4.54E-11
0016126	sterol biosynthetic process	15	8.58E-09
0006695	cholesterol biosynthetic process	12	8.36E-07
0008203	cholesterol metabolic process	19	2.61E-07
0016125	sterol metabolic process	23	5.01E-10
0008202	steroid metabolic process	33	4.86E-11
0044255	cellular lipid metabolic process	67	2.64E-11
0006066	cellular alcohol metabolic process	40	3.11E-08
0006082	organic acid metabolic process	52	2.31E-06
0019752	carboxylic acid metabolic process	52	2.35E-06
0032787	monocarboxylic acid metabolic process	32	2.49E-06
0006631	fatty acid metabolic process	23	3.59E-04
0051186	cofactor metabolic process	25	4.35E-03
0006732	coenzyme metabolic process	22	4.51E-03

表 4 トマトを摂取した Balb/c マウス肝臓の糖代謝に関連する DNA マイクロアレイデータ

Table 4 DNA microarray data on glucose metabolism-related genes induced by tomato beverage ingestion in liver of Balb/c mice

gene name	symbol	gene-expression	false discovery rate ^a	accession no. ^b
Glycogenesis				
glucokinase	<i>Gck</i>	UP	< 0.0001	NM_010292
glycogen synthase 2	<i>Gys2</i>	UP	0.00015	NM_145572
Glycolysis				
dihydrolipoamide s-acetyltransferase (e2 component of pyruvate dehydrogenase complex)	<i>Dlat</i>	DOWN	0.00074	AV336908
pyruvate kinase liver and red blood cell	<i>Pklr</i>	DOWN	0.00133	NM_001099779, NM_013631
Gluconeogenesis				
phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, cytosolic	<i>Pck1</i>	UP	0.00017	NM_011044
fructose bisphosphatase 1	<i>Fbp1</i>	UP	0.03393	NM_019395

^a コントロール群とトマト摂取群間での false discovery rate (FDR)。本試験では、FDR < 0.05 で生物学的に顕著な差があったとした。

^b GenBank ID

^a False discovery rate (FDR) between the control group and the tomato beverage group. In this experiment, genes at FDR < 0.05 were defined as showing biologically significant changes in expression levels. ^b GenBank ID.

表5 トマトを摂取した Balb/c マウス肝臓の脂質代謝に関連する DNA マイクロアレイデータ
 Table 5 DNA microarray data on lipid metabolism-related genes induced by tomato beverage ingestion in liver of Balb/cmice

gene name	symbol	gene-expression	false discovery rate ^a	accession no. ^b
Fatty acid synthesis				
elovl family member 5, elongation of long chain fatty acids	<i>Elov15</i>	DOWN	< 0.0001	NM_134255
elovl family member 6, elongation of long chain fatty acids	<i>Elov16</i>	DOWN	< 0.0001	NM_130450
fatty acid synthase	<i>Fasn</i>	DOWN	< 0.0001	NM_007988
stearoyl-coenzyme a desaturase 1	<i>Scd1</i>	DOWN	< 0.0001	NM_009127
malic enzyme, supernatant	<i>Me1</i>	DOWN	0.00135	NM_008615
sterol regulatory element binding factor 1	<i>Srebf1</i>	DOWN	0.00276	NM_011480
atp citrate lyase	<i>Acly</i>	DOWN	0.00342	NM_134037
acetyl-coenzyme a carboxylase alpha	<i>Acaca</i>	DOWN	0.00888	NM_133360
Fatty acid degradation				
cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 14	<i>Cyp4a14</i>	UP	0.00037	NM_007822
carnitine palmitoyltransferase 1a, liver	<i>Cpt1a</i>	UP	0.00053	NM_013495
acyl-coa synthetase long-chain family member 4	<i>Acs14</i>	UP	0.00512	NM_001033600, NM_019477, NM_207625
cytochrome p450, family 4, subfamily a, polypeptide 10	<i>Cyp4a10</i>	UP	0.00512	NM_010011
acyl-coenzyme a dehydrogenase family, member 9	<i>Acad9</i>	DOWN	0.00043	NM_172678
enoyl-coenzyme a, hydratase/ 3-hydroxyacyl coenzyme a dehydrogenase	<i>Ehhadh</i>	DOWN	0.00218	NM_023737
acyl-coenzyme A oxidase 2, branched chain	<i>Acox2</i>	DOWN	0.00328	NM_053115
Cholesterol synthesis				
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase	<i>Hmgcr</i>	UP	0.00418	NM_008255,
7-dehydrocholesterol reductase	<i>Dhcr7</i>	DOWN	< 0.0001	NM_007856
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a synthase 1	<i>Hmgcs1</i>	DOWN	< 0.0001	NM_145942
isopentenyl-diphosphate delta isomerase	<i>Idi1</i>	DOWN	< 0.0001	NM_145360, NM_177960
nad(p) dependent steroid dehydrogenase-like	<i>Nsdhl</i>	DOWN	< 0.0001	NM_010941
sterol-c5-desaturase (fungal erg3, delta-5-desaturase) homolog (s. cerevisiae)	<i>Sc5d</i>	DOWN	< 0.0001	NM_172769
sterol-c4-methyl oxidase-like	<i>Sc4mol</i>	DOWN	< 0.0001	AK005441
phosphomevalonate kinase	<i>Pmvk</i>	DOWN	0.00016	NM_026784
cytochrome p450, family 51	<i>Cyp51</i>	DOWN	0.00071	NM_020010
Cholesterol catabolism (bile acid biosynthesis)				
hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 7	<i>Hsd3b7</i>	DOWN	< 0.0001	NM_001040684, NM_133943
lysosomal acid lipase 1	<i>Lipa</i>	DOWN	0.00021	AI596237
retinol dehydrogenase 11	<i>Rdh11</i>	DOWN	0.00058	NM_021557
sterol o-acyltransferase 2	<i>Soat2</i>	DOWN	0.00325	NM_146064
hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	<i>Hsd17b12</i>	DOWN	0.00348	NM_019657
cytochrome p450, family 7, subfamily b, polypeptide 1	<i>Cyp7b1</i>	DOWN	0.00153	NM_007825

^a コントロール群とトマト摂取群間の false discovery rate (FDR)。本試験では、FDR < 0.05 で生物学的に顕著な差があったとした。

^b GenBank ID

^a False discovery rate (FDR) between the control group and the tomato beverage group. In this experiment, genes at FDR < 0.05 were defined as showing biologically significant changes in expression levels. ^b GenBank ID.

試験開始 3 週間後でのマウスの体重は群間で有意差は確認されなかったものの、6 週間後においては、TB 群の体重は Cont 群と比較して有意に低値を示した。さらに TB 群の相対肝重量も有意に低下した。血中のインスリンやアディポネクチン濃度は群間で差は確認されなかった。

TB 摂取による影響を遺伝子の変化レベルで解明するために、DNA マイクロアレイを用いて肝臓の遺伝子発現について分析を行った。各群 6 匹中で体重、肝重量、血糖値がそれぞれの群の平均値に近い 4 匹を選択しマイクロアレイ分析を実施した。まず全遺伝子を用いた階層的クラスター解析を行なったところ、Cont 群と TB 群間で顕著に分かれたクラスターが形成された（データは示さず）。このことは、遺伝子全体（43,000 種）の発現の比較においてトマトの摂取は個体差のばらつき以上の影響を及ぼしていることを示すものであり、トマトは顕著に遺伝子発現に影響を与えていることを示唆するものである。そこで、次に発現の変化が顕著であった遺伝子の選抜を行なった。なお本試験では、群間での各遺伝子の発現レベルの比較は FDR（False Discovery Rate）が 0.05 以下の場合を遺伝子発現レベルに差があるとした。解析の結果、TB 群は 687 種の遺伝子が発現増加（up-regulation）を示し、841 種の遺伝子が発現減少（down-regulation）を示した。

遺伝子の探索、可視化統合ソフトである DAVID を用い、それぞれの群で発現が変化した遺伝子群を Gene Ontology (GO) を基に機能別カテゴリーに分別した。TB 群で遺伝子が顕著に発現増加したカテゴリーを表 2 に、発現が減少したカテゴリーを表 3 に示した。総じて、トマトの摂取は糖や脂質の代謝に関連する遺伝子のカテゴリーに影響を与えていた。さらに、TB 摂取により変化した体重や肝重量は、これらの代謝に影響を受ける可能性が考えられた。そこで糖と脂質代謝に関連する遺伝子を抽出し詳細な解析を行なった。

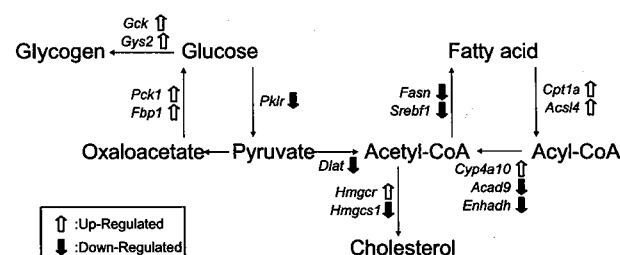
糖代謝に関連する遺伝子の中で、TB 摂取により発現が顕著に変化したものを表 4 に示した。TB の摂取は、糖代謝に関連する 6 つの遺伝子発現に影響を与え、グリコーゲン合成に関連する遺伝子は 2 種確認されいずれも発現は増加していた。また、解糖系に関連する 2 種の遺伝子は発現減少、糖新生については 2 種の遺伝子の発現増加が確認された。以上のことより、トマトの摂取は解

糖系を制御し細胞内へのグリコーゲンの蓄積をより促進させることが示唆された（図 1）。

脂質代謝に関連する遺伝子では、脂肪酸合成に関連する 8 種の遺伝子は、総じて発現が減少していた。脂肪酸分解に関しては 4 種の遺伝子の発現が増加したが、3 種の遺伝子では発現は減少した。コレステロール合成では、律速酵素である HMG-CoA リダクターゼ (*Hmgcr*) の発現は増加したが、他の 8 種の遺伝子の発現は減少した。コレステロール分解、胆汁酸生成合成に関連する 6 種の遺伝子の発現はすべてが減少した（表 5）。以上の結果より、トマトの摂取は、脂肪酸合成を制御し、脂肪酸酸化のある部分を活性化することが示唆された（図 1）。

図 1 トマト摂取に影響を受けたマウス肝臓の糖および脂質代謝経路の模式図

Figure 1 Summarized pathways of probable glucose and lipid metabolism in mouse liver affected by the ingestion of tomato beverage.



以上の DNA マイクロアレイ解析により、トマトの摂取は SREBPs (sterol regulatory element-binding proteins; ステロール調節エレメント結合タンパク質) を抑制し、PPARs (peroxisome proliferator-activated receptors; ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体) を活性化していることが示唆された。SREBPs はコレステロール合成経路、脂肪酸合成経路の諸酵素、あるいは LDL 取り込みを担う LDL 受容体の遺伝子発現などを調節し、脂質、エネルギー代謝を包括的に制御する転写因子である。また、PPARs は核内受容体の一種であり、炭化水素、脂質、タンパク質等の細胞内代謝と細胞の分化に密接に関与している転写因子群である。今回の実験結果では、トマトの摂取は *Srebf1* や SREBP-1c 関連遺伝子の発現を抑制しており、このことは、SREBP-1c が抑制されていることを強く示唆するものである。さら

に、PPAR α の遺伝子発現を増加させる傾向 (FDR=0.01444) や、*Cpt1a* の有意な発現増加が確認されており、トマトの摂取は PPAR α の活性化を示唆している。既報によると、遺伝子組み換えにより肝臓の SREBP-1c 発現を強めたマウスでは、トリグリセリドに富む脂肪肝を発症すること⁴⁾、逆に SREBP-1c の発現を抑制した場合は、肝臓での脂肪酸合成を阻害することが報告されている⁵⁾。また脂肪酸の減少には PPAR α の活性化が影響を与えることも知られている^{6, 7)}。これらのことから、トマトの摂取により体重や肝臓重量の増加抑制が認められたことは、SREBP-1c の抑制と PPAR α の活性化が影響している可能性が考えられた。

なお本試験は、トマトを摂取した際に肝臓の遺伝子の発現がどのように変化するかを網羅的に調査することを目的としており、それぞれに含まれる有効成分の検討は行なっていない。しかし、トマトにはリコピン (lycopene) や様々な微量成分が含まれているとの報告があり^{8, 9)}、本試験で得られた遺伝子発現の変化は、これらの成分の相加・相乗的な影響である可能性も考えられる。いくつかの報告では、トマトのリコピンが脂質代謝に関連する遺伝子発現に影響を与えることが知られており^{10, 11)}、今回の遺伝子発現に影響を与える成分はカロテノイドである可能性も考えられるが、その解明には更なる検討が望まれる。

以上のように、今回は正常なマウスにトマトを摂取させた場合の遺伝子発現に与える影響について網羅的に解析を行ない、トマトは糖や脂質代謝を活性化させる可能性を見出した。様々な病態モデルに対し野菜やその成分が予防的に働くことに関する報告が多い中で、本研究は正常な状態での野菜摂取の利点を DNA マイクロアレイ解析で解明した初めての報告であると考えられる。また今回の研究は、日常的なトマトの摂取が健康維持や疾病予防に機能していることを示唆する極めて興味深いものである。

4. 謝辞

本研究は、大阪薬科大学教授 天野富美夫 先生、東京大学教授 阿部啓子 先生、東京大学准教授 中井雄治 先生、東京大学助教 石島智子 先生、カゴメ株式会社 稲熊

隆博 氏、カゴメ株式会社 松本年弘 氏とともに共同で実施した。皆様に心より感謝申し上げます。

＜参考文献＞

- 1) Aizawa, K. *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 57, 10964-10971 (2009).
- 2) Hochreiter, S. *et al.*, *Bioinformatics.*, 22, 943-949. (2006).
- 3) Breitling, R. *et al.*, *FEBS Lett.*, 573, 83-92 (2004).
- 4) Shimano, H. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 99, 846-854 (1997).
- 5) Yahagi, N. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 277, 19353-19357 (2002).
- 6) Chao, P. M. *et al.*, *J. Nutr.*, 131, 3166-3174 (2001).
- 7) Sülzle, A. *et al.*, *J. Nutr.*, 134, 1375-1383 (2004).
- 8) Aizawa, K. *et al.*, *Food Sci. Technol. Res.*, 13, 247-252 (2007).
- 9) Riso, P. *et al.*, *Tomatoes and Health Promotion. In Vegetables, Fruits, and Herbs in Health Promotion.*; Watson R. R. Eds.; CRC Press: Washington, D. C., pp 45-70 (2000).
- 10) Campbell, J. K. *et al.*, *J. Nutr.*, 136, 2813-2819 (2006).
- 11) Zaripheh, S. *et al.*, *J. Nutr.*, 136, 932-938 (2006).

■アンチエイジングと機能性食品因子

(R)-(-)-リナロールのストレス抑制効果 —拘束ストレスラットにおける遺伝子発現変動解析からの考証

中村 明朗*

1. 緒言

香気成分は様々な構造を有する低分子化合物であり、食物や環境についての情報を与えてくれる。さらには、多岐に渡る生理心理的效果を引き起こすことが古くから経験的に知られており、最近ではストレス調節に関する報告例も多い。中でもリナロール (3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol) は鎮静作用、ホルモンバランス調整作用など比較的多くの研究例が報告されており、また生体への作用は中枢神経系を介していることが示唆されている^{1,2,3)}。リナロールは鎖状モノテルペンアルコールの一つであり、香料原料として食品と香粧品の両方に幅広く使用されている。またリナロールには香気の異なる2種類の光学異性体が存在しているが、(R)-(-)-体と(S)-(+)-体とでは、異なる生理作用が報告され⁴⁾、(R)-(-)-リナロールには心拍数を減少させる鎮静作用が報告されている⁵⁾。

近年、こうした香りの生理的心理作用に対する関心が高まっており、健康維持や健康促進への貢献が期待されている。しかしながら、生理面と心理面が複合的に影響する作用は複雑であり^{1~6)}、*in vivo*における香気吸入の作用を客観的に評価した研究は限られている。そこで本研究では香気成分吸入の生体に対する作用を考証することを目的とし、心理的・身体的複合ストレスとして2時間拘束した急性ストレスモデルラットを使用し、香気成分吸入がもたらす血球細胞構成や遺伝子発現プロファイルの変化について考察した。

2. 香気成分吸入の血球成分、全血中の遺伝子発現プロファイルに与える作用

Wistar系ラット(8週齢、雄)16頭を以下の4群(対照群; 香気成分提示・ストレス負荷共になし、ストレス群; ストレス負荷のみ、ストレス中香気提示群; 香気成分提示・ストレス負荷共により、香気提示群: 香気成分提示のみ)に分けた。ストレス中香気提示群には2時間拘束中に、香気提示群にはストレス負荷なしに、20 μ L の(R)-(-)-リナロール (92% ee) を40 Lの香気提示装置中に加熱拡散させて提示した。2時間後速やかに断頭採血した。

対照群とストレス群の比較により、各ストレス指標への拘束の影響を調べた結果、拘束により血漿ACTHとコルチコステロン濃度は有意に上昇した。さらに白血球中の好中球割合は拘束により有意に増加、リンパ球割合は有意に減少していた。対照群とストレス中香気提示群の比較では、好中球やリンパ球の組成比には、拘束による有意な増加、減少は検出されず、(R)-(-)-リナロール吸入は好中球、リンパ球割合に関してストレス誘導性の変化を抑制した⁷⁾。

次に、血中の遺伝子発現量の変化として香気成分のストレス応答に対する作用を検出することは可能であるか検討するために、全血より抽出した全RNAを用いてDNAマイクロアレイ解析を行った。ヘモグロビンmRNAの除去後、3万以上の転写産物の遺伝子発現量を網羅的に定量可能なGeneChip Rat Genome 230 2.0 Array (Affymetrix)を用い、ANOVA検定で対照群・ストレス群・ストレス中香気提示群間での発現量に有意差が認められた1,695プローブセット(遺伝子)の発現変動に着目した。これらの遺伝子群を対象にした階層型クラスターリングにより、個体間の発現プロファイルの類似性を解析した。大きくクラスターが分かれたのはストレス負荷の有無であり、さらにストレス中香気提示群と

*長谷川香料株式会社 総合研究所 技術研究所

ストレス群は別々のクラスターに分類された。各試験群内で発現プロファイルの類似性は高く、1,695 プローブセット中には (R)-(-)-リナロール吸入による影響を受ける遺伝子群が含まれることが示唆された。そこでチューキー検定により拘束によっても (R)-(-)-リナロール吸入によっても発現変動する遺伝子群の絞り込みを行うことで、ストレスによって発現量が有意に変化した遺伝子群に対する (R)-(-)-リナロール吸入の影響を解析した。その結果、拘束によって有意に血中発現量が変動した 696 プローブセットのうち、香気成分吸入の影響を受ける 115 プローブセットを見出した。さらにこれら 115 中 109 プローブセットのシグナル値は、(R)-(-)-リナロール吸入によりストレス状態から正常状態に近づく発現変動を示しており、好中球やリンパ球割合と同様の変動パターンであった⁷⁾ (図 1)。

3. 香気成分吸入の視床下部の遺伝子発現プロファイルに与える作用

2 時間の急性ストレス中の (R)-(-)-リナロール吸入が、血中のストレス応答に作用することを遺伝子発現量の変化として検出できた。しかし、全血における遺伝子発現プロファイルの変化は血球成分構成の変化も反映していることが考えられるため、必ずしも血球細胞レベルでの遺伝子発現の転写調節がなされているとは限らない。ではどのような生物学的機能を持った遺伝子群の発現量が変化したかについて解析するために、ストレス応答中枢であり⁸⁾、また (R)-(-)-リナロールの作用部位であることが示唆されている⁹⁾ 視床下部を対象部位とし、遺伝子発現プロファイル比較と Gene Ontology による機能グループ解析を行った。

断頭した直後の 16 頭のラットから摘出した視床下部を含むブロックから抽出した全 RNA を用い、GeneChip Rat Genome 230 2.0 Array により遺伝子発現プロファイルと比較解析した。全遺伝子群を対象として行った階層型クラスタリングは、(R)-(-)-リナロール吸入が遺伝子発現プロファイル変動に大きく寄与することを示す結果であり、次にストレス条件下での (R)-(-)-リナロール吸入の作用に着目した Gene Ontology 解析を行った (図 2)。その結果、(R)-(-)-リナロール吸入により神経突起発達、転写調節、細胞形態形成、RNA 代謝関連遺伝子群の発現

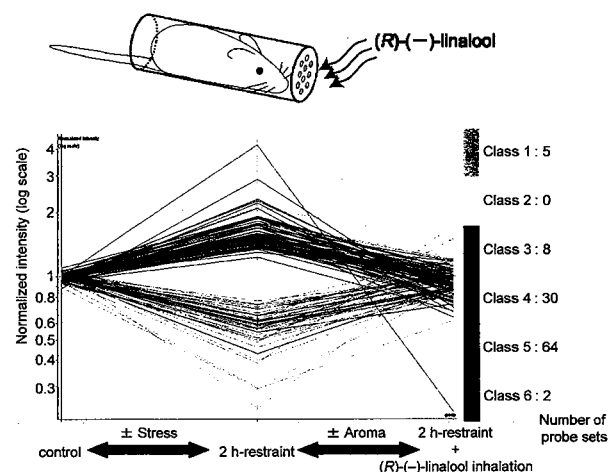


図 1 ストレス中に香気吸入させたラットの模式図と (R)-(-)-リナロール吸入によりストレス誘導性変動が抑制された 109 プローブセットの全血中遺伝子発現変動。各線はチューキー検定により、拘束ストレスと (R)-(-)-リナロールによる有意な変動 ($p < 0.05$) が認められたプローブセットの群間発現量変化を示す。

Figure 1 Illustration of the experimental setup and variation of the 109 gene expression profiles for which the stress-induced changes were repressed by (R)-(-)-linalool in their whole blood. Each line plot shows two-hour-restraint and/or (R)-(-)-linalool-induced changes. The 109 gene expression values passed the filtering criteria of both $p < 0.05$ by Tukey's post hoc test.

が誘導されたことが示唆された⁹⁾。特に神経細胞分化と遺伝子発現調節関連遺伝子の発現が亢進していた。また香気吸入によるこれらの遺伝子発現量の亢進は非拘束ストレス下の (R)-(-)-リナロール吸入では確認されず、ストレス条件下で生じていることが示唆された。

ストレス変動性の遺伝子群に着目すると、(R)-(-)-リナロール吸入によって変動した遺伝子群は 104 個であり、このうち 77 プローブセットのシグナル値は (R)-(-)-リナロール吸入によりストレス状態から正常状態に近づくような発現変動を示していた。一方、残りの 27 プローブセットには、熱ショックタンパク質類 (*Hspa1L*, *Hspb1*, *Hsph1*, *Dnajb1*)、CCAAT/エンハンサー結合タンパク質 (*Cebpb*, *Cebpd*)、前初期遺伝子 (*Fos*) など、ストレスに対して必要な生体応答を引き起こす役割を果たすと考えられた特徴的な遺伝子群が多数含まれていた⁹⁾。特にストレスが引き起こす細胞死を抑制する¹⁰⁾ 拘束ストレス

GO-ID	GO term	Counts	FDR-corrected <i>p</i> -value
0065007	biological regulation	137	8.42E-03
0050789	regulation of biological process	126	8.85E-03
0019222	regulation of metabolic process	75	1.08E-02
0050794	regulation of cellular process	113	8.16E-03
0031323	regulation of cellular metabolic process	68	2.93E-02
0019219	regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process	63	2.53E-02
0045449	regulation of transcription	62	1.77E-02
0006350	transcription	65	1.96E-02
0010468	regulation of gene expression	67	1.03E-02
0010467	gene expression	85	2.44E-02
0006139	nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process	96	9.64E-03
0016070	RNA metabolic process	70	2.44E-02
0009987	cellular process	250	3.27E-02
0030030	cell projection organization and biogenesis	20	2.43E-02
0048858	cell projection morphogenesis	20	2.43E-02
0032990	cell part morphogenesis	20	2.43E-02
0048869	cellular developmental process	65	4.98E-02
0030154	cell differentiation	65	4.98E-02
0031175	neurite development	17	3.14E-02
0048666	neuron development	19	2.49E-02
0030182	neuron differentiation	22	2.44E-02
0048699	generation of neurons	24	2.57E-02
0022008	neurogenesis	25	3.40E-02
0007399	nervous system development	39	3.32E-02

図 2 2 時間拘束ストレス下 (R)-(-)-リナロール吸入により発現亢進した視床下部の 594 プローブセットにおいて有意差の認められた GO terms とそれらの階層関係。Counts は各 GO term に含まれるプローブセット数を示す。最も深い階層に位置したカテゴリーの FDR 補正 *p* 値と counts を灰色で示す。

Figure 2 Significantly enriched GO terms found in 594 upregulated genes following (R)-(-)-linalool inhalation under stressed conditions ($p < 0.05$). Counts represent the number of probe sets annotated to each gene ontology (GO) term. FDR-corrected *p*-values and counts of the categories appearing in the deepest hierarchy are shadowed.

誘導性の熱ショックタンパク質関連遺伝子群の発現亢進が顕著であった。

従って、拘束ストレス中の (R)-(-)-リナロール吸入は視床下部において神経細胞の分化や成熟過程を活性化しうる遺伝子群の発現量を亢進し、また拘束ストレスが引き起こす細胞死を抑制しうる機能に作用すると考えられた。

4. 香気成分吸入によるストレス調節効果

本研究では香りがもたらす生理心理的作用の一端を明

らかにするため、香気成分吸入によるストレス調節効果を定量的に解析する試みとして、2 時間の急性拘束ストレス中に、(R)-(-)-リナロールを吸入したラットの血球細胞構成解析や遺伝子発現プロファイル解析を行った。(R)-(-)-リナロール吸入は特にストレス負荷条件下で生体指標に有意な変動を引き起こし、好中球やリンパ球割合、血中の遺伝子発現量に関して、拘束ストレスによる影響を抑制することを見出した。また、中枢神経系においても確かに遺伝子発現に影響を与え、転写調節系や神経細胞の分化に関連した遺伝子群の発現を亢進し、ストレス誘導性遺伝子群の発現量を変化させることを見出した。様々な植物精油に含有されている香気成分吸入がス

トレス応答の中核としても機能する視床下部の遺伝子発現に影響を及ぼしたことは明らかであり、ストレス応答に対する作用を DNA マイクロアレイ解析により検討した本手法は、香気成分の生体に及ぼす作用を考証する上で有効な手法と考えられる。また、経験的に知られる香りの作用は多様であるが、これらを科学的に評価することは難しく、特にヒトを対象とする場合、その評価方法は大幅に制限される。こうした中、血液を解析対象とした研究で香気成分による影響を確認できたことから、ヒト試験における香気成分の新しい評価方法に大きく寄与するものと期待される。

<参考文献>

- 1) Re L, Barocci S, Sonnino S, Mencarelli A, Vivani C, Paolucci G, Scarpantonio A, Rinaldi L, Mosca E: Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. *Pharmacol Res* 42: 177-182, 2000
- 2) Elisabetsky E, Marschner J, Souza DO: Effects of Linalool on glutamatergic system in the rat cerebral cortex. *Neurochem Res* 20: 461-465, 1995
- 3) Shen J, Nijima A, Tanida M, Horii Y, Maeda K, Nagai K: Olfactory stimulation with scent of lavender oil affects autonomic nerves, lipolysis and appetite in rats. *Neurosci Lett* 383: 188-193, 2005
- 4) Höferl M, Krist S, Buchbauer G: Chirality influences the effects of linalool on physiological parameters of stress. *Planta Med* 72: 1188-1192, 2006
- 5) Kuroda K, Inoue N, Ito Y, Kubota K, Sugimoto A, Kakuda T, Fushiki T: Sedative effects of the jasmine tea odor and (R)-(-)-linalool, one of its major odor components, on autonomic nerve activity and mood states. *Eur J Appl Physiol* 95: 107-114, 2005
- 6) Tanida M, Nijima A, Shen J, Nakamura T, Nagai K: Olfactory stimulation with scent of lavender oil affects autonomic neurotransmission and blood pressure in rats. *Neurosci Lett* 398: 155-160, 2006
- 7) Nakamura A, Fujiwara S, Matsumoto I, Abe K: Stress repression in restrained rats by (R)-(-)-linalool inhalation and gene expression profiling of their whole blood cells. *J Agric Food Chem* 57: 5480-5485, 2009
- 8) Sawchenko PE, Li HY, Ericsson, A. Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Prog Brain Res* 122: 61-78, 2000
- 9) Nakamura A, Fujiwara S, Ishijima T, Okada S, Nakai Y, Matsumoto I, Misaka T, Abe K: Neuron differentiation-related genes are up-regulated in the hypothalamus of odorant-inhaling rats subjected to acute restraint stress. *J Agric Food Chem* 58: 7922-7929, 2010
- 10) Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, Didelot C, Garrido C: Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27. *Prion* 1: 53-60, 2007

■ミネラル摂取基準のゲノミクスによる検証

肝臓遺伝子発現解析から鉄摂取量安全性基準を予測する

亀井 飛鳥*

1. 鉄

鉄は、代謝や生体機能維持に必須の微量元素である^{1,2)}。出血や摂取量の低下などにより鉄が不足すると、まずは肝臓などの組織に貯蔵された鉄が利用される。さらに不足状態が続いて貯蔵鉄が減少すると、ヘモグロビン量が低下し、貧血に至る。鉄欠乏性貧血は、血中ヘモグロビン量の低下を伴い、生体にとって深刻な問題を引き起こす。WHO の調査報告（1993～2005 年）によると世界人口の 24.8% を占める 16.2 億人が貧血であり、そのうち最も罹患率の高いのは未就学児童（47.4%）であり、最も罹患率の低い成人男性においても 12.7% を占める。このように、鉄欠乏は世界的に最も欠乏しやすい栄養素の一つである。

2. 鉄欠乏性貧血

ヘモグロビンは酸素運搬の担体だが、鉄が欠乏することによってその量は低下する。そのため、鉄欠乏時には末梢組織への酸素運搬効率が低下し、その結果、末梢組

織でのエネルギー代謝が変化する。例えば、鉄欠乏により脂質代謝が変動することはこれまでも報告されている。しかし、鉄欠乏の影響について、他の栄養素代謝や細胞機能に至るまで網羅的に解析した報告はなかった。肝臓は栄養素代謝の主要臓器であること、また鉄の主要貯蔵臓器でもあることから、鉄欠乏の影響を解析する対象として適していると考えた。我々は鉄欠乏が肝臓の遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにするために網羅的なトランスクリプトーム解析を実施した。

(1) 動物実験

4 週齢のラットに鉄欠乏食（鉄量 3 ppm 未満）を 16 日間自由摂取させた。通常食（鉄量 48 ppm）はペアフューディングさせた。飼育期間中、鉄欠乏食摂取ラットのヘモグロビンは徐々に低下し、17 日目には通常食群の約 40% 程度と低く、貧血を呈していた（表 1）。

(2) DNA マイクロアレイ解析

鉄欠乏性貧血が肝臓遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにするため、DNA マイクロアレイ解析を行った（Affymetrix, GeneChip® Rat Genome 230 2.0 Array）。

表 1 体重、肝臓重量、ヘモグロビン、血清鉄、肝臓鉄量

Table 1 Body weight, Liver weight, Hemoglobin, Serum iron, and Liver iron

Group	n	Body weight	Liver weight	Hemoglobin	Serum iron	Liver iron
		g	g	g/dl	μg/dl	μg/g wet tissue
Pair-fed group	6	194.5 ± 1.2	9.0 ± 0.3	14.4 ± 0.4	247.0 ± 29.0	101.8 ± 5.6
Iron-deficient	7	198.5 ± 5.7	7.9 ± 0.4*	6.1 ± 0.2**	35.0 ± 3.4**	66.0 ± 3.6**

値は平均値 ± 標準誤差で表した。

*, $P < 0.05$

**, $P < 0.01$

階層的クラスター解析を実施したところ、群ごとにクラスターを形成することが明らかになった（図 1）。この結果より、2 群間の肝臓の遺伝子発現パターンが異なると考えられた。続いて 2 群間比較解析を行い、鉄欠乏群で発現増加した 600、発現減少した 500 のプローブセットを抽出した。発現増加したプローブセットには、コレステロール代謝、アミノ酸代謝、糖代謝に関わる遺伝子が濃縮されており（表 2）、発現減少したプローブセットには脂質代謝に関わる遺伝子が濃縮されていた（表 3）。遺伝子リストは表 4 および表 5 に掲載した。これらの代謝過程で生じる代謝産物の肝臓中および血中の量を測定し（表 6）、遺伝子発現解析結果と合わせ、食餌性鉄欠乏による貧血で引き起こされる肝臓の代謝変動を図 2 にまとめた。本研究より、鉄欠乏時には、糖、脂質、アミノ酸といった栄養素の代謝が全体的に大きく変動することが明らかになった。

さらに、小胞体ストレス誘導性のアポトーシスのイニシエータである caspase 12 や、エフェクタである

caspase 3 の遺伝子発現が鉄欠乏群で増加していることが見出された（図 3）。caspase 12 が変動していたことから、小胞体ストレスに着目したところ、熱ショックタンパク質の遺伝子発現の低下が見出された。熱ショックタンパク質は分子シャペロンとして機能するが、これが減少したことによって折りたたみ不全のタンパク質が増加し、小胞体ストレスを誘導したと考えられる。

(3) 結論

鉄欠乏は栄養素代謝全体を大きく変動させるだけでなく、小胞体ストレス誘導性アポトーシスといった細胞機能などにも影響を及ぼすことが明らかになった³⁾。

3. 貧血のない鉄欠乏

日本において、女性の約 10% は鉄欠乏性貧血と言われているが、貧血予備軍である「貧血のない鉄欠乏」は 20 ～ 40% を占めるとの報告がある⁴⁾。貧血のない鉄欠乏は、体内の貯蔵鉄が不足した状態であるが、ヘモグロビンの低下を伴わない（酸素運搬能の低下を伴わない）ため、その問題は深刻視されていない。しかし、鉄はシトクロムなどの酵素の活性に必須の補欠分子族であることから、鉄が不足することによりそれらの酵素活性が変化し、それに伴い生体内の代謝などが変化することが予測される。たとえ「貧血のない」状態であっても、貯蔵鉄が不足するほどの「鉄欠乏」は生体になんらかの影響を及ぼすと考えられる。そこで、貧血のない鉄欠乏の分子レベルでの解析を目的に、DNA マイクロアレイ解析を実施したところ、有用な結果が得られた（論文投稿中）。

4. 鉄過剰

鉄は主に小腸上部で吸収されるが、その量は厳密に制御されている。すなわち、鉄を過剰に経口摂取した場合、小腸からの吸収（血中への移行）が阻害され、過剰な鉄のほとんどが吸収されないまま排泄される。一方、鉄が組織に過剰蓄積することで、細胞に酸化ダメージを与えることが知られている（Fenton 反応）。例えば、C 型肝炎では肝臓に鉄が蓄積し、肝炎から肝硬変、肝がんに至る増悪因子と

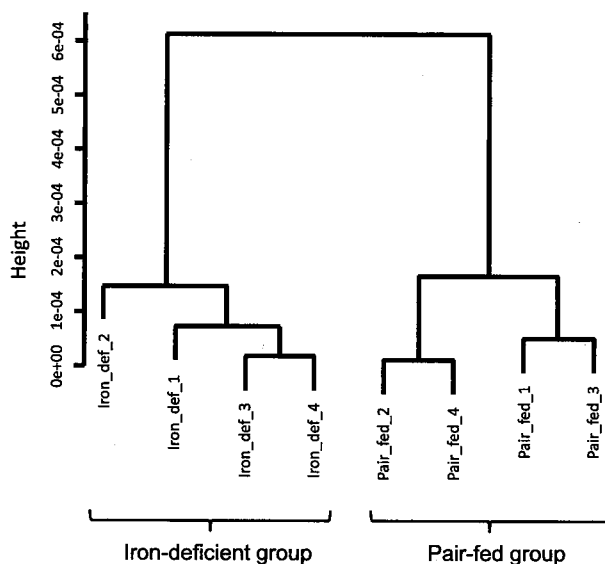


図 1 DNA マイクロアレイデータの階層的クラスター解析結果

Pair-fed, 通常食群; Iron-def, 鉄欠乏群
番号は個々のサンプルを表す
縦軸はクラスター間の距離を表す

Figure 1 Hierarchical clustering dendrograms from the DFW-quantified DNA microarray data. Pair-fed, pair-fed group; Iron-def, iron-deficient group. Numbers represent independent samples. The vertical scale represents between-cluster distances.

表 2 鉄欠乏群で発現増加した 600 の遺伝子の GO terms に基づく濃縮度解析
 Table 2 Significantly enriched GO terms (FDR-corrected P -value < 0.01)
 found in the top 600 up-regulated genes in the iron-deficient group

GO_ID	Term	FDR-corrected P -value
0002376	immune system process	8.18E-06
0019882	antigen processing and presentation	1.63E-06
0048002	antigen processing and presentation of peptide antigen	1.83E-06
0002474	antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I	1.73E-06
0006955	immune response	1.05E-04
0050896	response to stimulus	1.62E-04
0006950	response to stress	4.95E-03
0006952	defense response	2.35E-04
0002526	acute inflammatory response	1.32E-03
0006954	inflammatory response	1.78E-04
0009611	response to wounding	9.95E-05
0009605	response to external stimulus	9.98E-05
0008152	metabolic process	
0006629	lipid metabolic process	6.57E-03
0008610	lipid biosynthetic process	9.82E-03
0044255	cellular lipid metabolic process	3.00E-04
0008202	steroid metabolic process	1.01E-07
0006694	steroid biosynthetic process	1.89E-04
0016125	sterol metabolic process	3.07E-07
0016126	sterol biosynthetic process	1.00E-04
0008203	cholesterol metabolic process	1.16E-05
0006066	cellular alcohol metabolic process	1.45E-06
0006082	organic acid metabolic process	7.70E-04
0019752	carboxylic acid metabolic process	6.97E-04
0009987	cellular process	
0007165	signal transduction	
0007249	I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade	6.40E-03
0016265	death	
0006915	apoptosis	
0051402	neuron apoptosis	1.09E-03
0065007	biological regulation	
0050793	regulation of developmental process	
0043523	regulation of neuron apoptosis	3.28E-03
0043525	positive regulation of neuron apoptosis	1.92E-03
0048518	positive regulation of biological process	1.81E-03
0045787	positive regulation of progression through cell cycle	7.31E-03
0050794	regulation of cellular process	
0050806	positive regulation of synaptic transmission	7.88E-03
0051239	regulation of multicellular organismal process	

FDR-corrected P -valuesは、改変版Fisherの正確確立検定により算出した P -valueについて
 Benjamini & HochbergのFDR補正した値。

最下層のtermについては、FDR-corrected P -valuesをグレーで色付けた。

表 3 鉄欠乏群で発現減少した 500 の遺伝子の GO terms に基づく濃縮度解析
 Table 3 Significantly enriched GO terms (FDR-corrected P -value < 0.01)
 in the top 500 down-regulated genes in the iron-deficient group

GO_ID	Term	FDR-corrected P -value
0006082	organic acid metabolic process	2.59E-09
0019752	carboxylic acid metabolic process	4.20E-09
0032787	monocarboxylic acid metabolic process	1.83E-06
0006631	fatty acid metabolic process	1.13E-04
0044255	cellular lipid metabolic process	2.80E-04
0006629	lipid metabolic process	2.47E-04
0008610	lipid biosynthetic process	6.68E-03

FDR-corrected P -valueについてはTable 2参照。

グレーの色付けについてはTable 2参照。

表 4 鉄欠乏食群で発現増加した遺伝子リスト

Table 4 List of genes with increased expression in livers of rats fed iron-deficient diet

Gene Title	Public ID
Cholesterol metabolic process	
Sterol biosynthetic process	
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase 1	NM_017268
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	BM390399
isopentenyl-diphosphate delta isomerase	NM_053539
farnesyl diphosphate synthetase	NM_031840
squalene epoxidase	NM_017136
cytochrome P450, subfamily 51	NM_012941
24-dehydrocholesterol reductase	BF417479
sterol-C4-methyl oxidase-like	NM_080886
NAD(P) dependent steroid dehydrogenase-like	BF407232
cytochrome P450, family 7, subfamily a, polypeptide 1	NM_012942
insulin induced gene 1	NM_022392
insulin induced gene 2	AA851803
Carboxylic acid metabolic process	
Amino acid metabolic process	
glutamate-ammonia ligase (glutamine synthetase)	NM_017073
serine dehydratase	NM_053962
glutamic pyruvic transaminase 1, soluble	NM_031039
glutamate oxaloacetate transaminase 1, soluble	D00252
argininosuccinate lyase	NM_021577
Gluconeogenesis	
glucose-6-phosphatase, catalytic	NM_013098
phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, cytosolic	BI277460
Acute inflammatory response	
complement component 1, s subcomponent	D88250
complement component 1, r subcomponent	BI292425
complement component 4, gene 2	BI285347
complement component 6	AI045191
Apoptosis	
caspase 3, apoptosis related cysteine protease	U84410
caspase 12	NM_130422
Neuron apoptosis	
BCL2/adenovirus E1B 19 kDa-interacting protein 3	NM_053420

表 5 鉄欠乏食群で発現減少した遺伝子リスト

Table 5 List of genes with decreased expression in livers of rats fed iron-deficient diet

Gene Title	Public ID
Fatty acid metabolic process	
Lipid biosynthetic process	
fatty acid synthase	NM_017332
stearoyl-coenzyme A desaturase 1	J02585
fatty acid desaturase 1	NM_053445
fatty acid desaturase 2	NM_031344
sterol regulatory element binding factor 1	AF286470

表 6 肝臓中の総コレステロール、TG、胆汁酸量および血清中の総コレステロール、TG、グルコース、インスリン濃度

Table 6 Levels of liver total cholesterol, liver triacylglycerol, liver total bile acid, serum total cholesterol, serum triacylglycerol, serum glucose, and serum insulin in rats

		Pair-fed group	Iron-deficient group
	n	6	7
Liver			
Total cholesterol	mg/g wet tissue	3.7 ± 0.2	2.6 ± 0.1**
Triacylglycerol	mg/g wet tissue	11.8 ± 0.8	8.0 ± 1.1*
Total bile acid	μg/g wet tissue	25.6 ± 1.4	32.4 ± 3.3
Serum			
Total cholesterol	mg/dl	70.3 ± 5.0	48.1 ± 3.1**
Triacylglycerol	mg/dl	73.0 ± 4.4	61.6 ± 11.9
Glucose	mg/dl	125.2 ± 6.9	145.6 ± 4.8*
Insulin	ng/ml	2.3 ± 0.4	5.1 ± 1.2*

値は平均値 ± 標準誤差で表した。

*, $P < 0.05$

**, $P < 0.01$

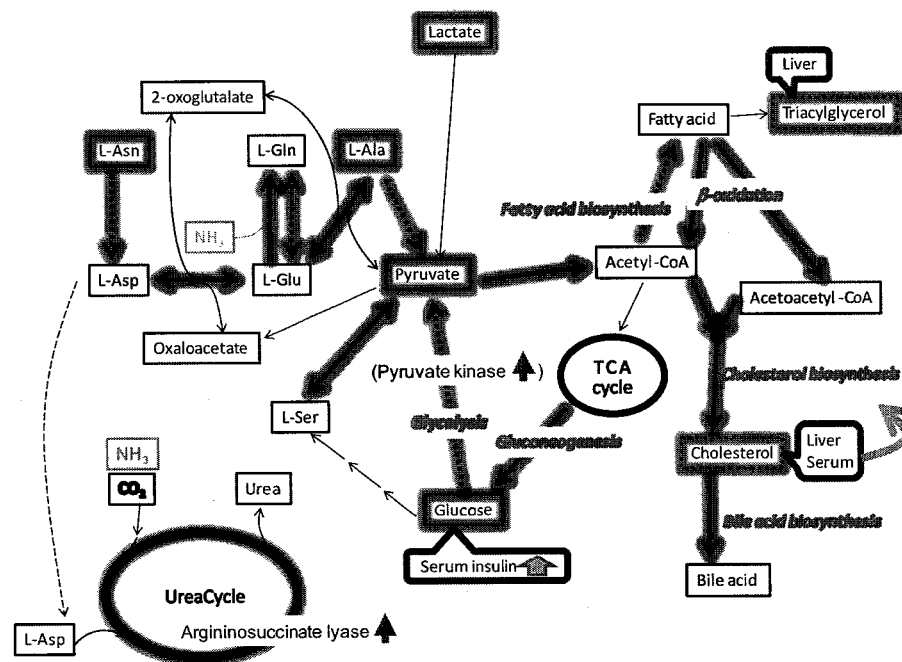


図 2 鉄欠乏性貧血の肝臓における代謝変動

太線矢印：遺伝子発現増加

破線矢印：遺伝子発現減少

太線の四角：血清あるいは肝臓中濃度の増加

破線の四角：血清あるいは肝臓中濃度の減少

Figure 2 Possible hepatic metabolic changes due to dietary iron deficient anemia.

Bold arrows, up-regulated gene expression;

Dashed arrows, down-regulated gene expression.

Bold squares, increased level in serum or liver;

Dashed squares, decreased level in serum or liver.

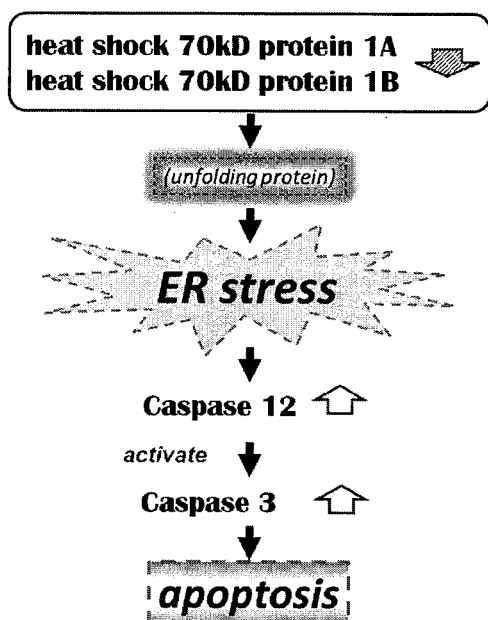


図 3 鉄欠乏性貧血時の肝臓における小胞体ストレスによるアポトーシス誘導の可能性

↑ : 遺伝子発現増加
 ↓ : 遺伝子発現減少

Figure 3 Possible induction of apoptosis as a consequence of endoplasmic reticulum (ER) stress due to dietary iron deficient anemia.

↑, up-regulated gene expression;
 ↓, down-regulated gene expression.

なる。我々は、鉄過剰摂取が生体に及ぼす影響を分子レベルで明らかにするため、DNA マイクロアレイ解析を実施し、有用な結果を得た。

5. まとめ

鉄の機能や、鉄摂取量の安全な基準を明らかにするためには、鉄の欠乏・過剰の両条件について検討する必要がある。さらに体内の鉄量を段階的に設定してデータを取得し、蓄積することで、より精度の高い情報を得ることができる。私たちの実施した鉄栄養についての生体分子レベルでの研究は、他の栄養素の必要量を決定する上にも応用することのできる手法である。

<謝辞>

本研究を実施するにあたり、東京大学大学院特任教授 阿部啓子先生、東京農業大学教授 荒井綜一先生、東京

大学大学院特任教授 加藤久典先生、東京農業大学教授 上原万里子先生、東京大学大学院特任准教授 中井雄治先生、東京大学大学院特任助教 石島智子先生、財団法人神奈川科学技術アカデミー 渡部由貴氏、同 篠崎文夏博士のご助言、ご協力を賜りました。心より、御礼申し上げます。

<参考文献>

- 1) Mendel, R.R., *et al.*, Metal and cofactor insertion. *Nat Prod Rep*, 2007. 24(5): p. 963-971.
- 2) Tsiftoglou, A.S., Tsamadou, A.I., and Papadopoulou, L.C. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacol Ther*, 2006. 111(2): p. 327-345.
- 3) Kamei, A., *et al.*, Dietary iron-deficient anemia induces a variety of metabolic changes and even apoptosis in rat liver: a DNA microarray study. *Physiol Genomics*, 2010. 42(2): p. 149-156.
- 4) Uchida, T., [Anemia in Japanese women: the current situation and the cause]. *Rinsho Ketsueki*, 2004. 45(10): p. 1085-1089.

■アンチエイジング研究の世界動向

抗加齢研究動向における中国の戦略

傳 正偉*

1. はじめに

昨年実施された人口調査の結果、出生率が劇的に減少するとともに寿命が伸びたことにより過去 20 年間で最も速いスピードで中国国民の高齢化が進んでいる。この変化に伴って国民の慢性疾患有病率や身体障害の割合が増加している。中国政府は人口の高齢化に対応して、年金制度の完備、慢性疾患の予防および抗加齢（アンチエイジング）研究などの戦略を打ち出している。ここでは、中国におけるエイジング理論や関連遺伝子、老化動物モデルやアンチエイジング研究およびその動向を簡潔に概説する。フリーラジカル理論のような老化に関する西洋医学理論のうち、ミトコンドリア DNA 損傷（理論）は中国人研究者に広く受け入れられている。これまでの研究により、*Klotho*、*Sirt1*、miRNA のような老齢化に関連した遺伝子は、加齢に伴う慢性疾患において重要な役割を果たすことが示されている。この種の遺伝子変異あるいは欠損は通常の老化過程と似た現象を誘導するため、しばしば老化動物モデルの作成に用いられる。さらに、D-ガラクトースを投与することによって有用な老化モデルを作り出せることが、1980 年代に中国研究者によって初めて報告されており、この方法は中国のアンチエイジング研究において今なお広く用いられている。そして近年、この D-ガラクトース投与老化モデルは時差ぼけの負荷と組み合わせることで改良が加えられている。これらのエイジング理論や動物モデルを元にした食事制限理論や抗酸化処理、ホルモン療法などの様々な療法が、中国における現代式の効果的なアンチエイジング法となった。一方、漢方においては腎不全が老化の主要因であるとの考えがあった。漢方理論による老化メカニズム

の包括的な理解と抗加齢物質の探索のため、数多くの研究が行われてきた。クコの実や朝鮮人参のような漢方薬は、それ単独で慢性疾患を治し老化を遅延する効果が知られている。しかしながら、漢方薬療法で副作用を軽減し、より顕著な効果を得るためには、一般的に単独ではなく処方による複数の漢方薬を用いている。さらに、中国国民はアンチエイジング機能性食品も探し求めている。薬膳料理は世界でもユニークなものであり、伝統的に料理で用いられる食品素材に薬草を組み合わせる機能性食品を作り出している。アンチエイジング戦略は中国において発展してきているが、エイジングメカニズムやアンチエイジング製品は引き続き包括的かつ系統的に注意深く研究される必要がある。

昨年末に実施された調査から、2010 年に中国国民人口が 13 億 4,000 万に達したこと、さらに全人口の 13.3% を占める 60 歳以上の人口の伸び率が大きく、2000 年から約 3% の伸びがあった。60 歳以上の人口の占める割合は次の 5 年間で 16.7% に達し、2050 年には約 30% になると予想されている。高齢者は若年層よりも慢性的な健康問題がより共通の問題となるため、高齢化に伴い、国全体の慢性疾患有病率や身体障害の割合も増加している。さらに、喫煙や高脂肪高カロリー食、体を動かさない余暇が多くなる等のリスク要因に晒される機会も増えるといった生活水準の変化が慢性疾患の有病率の増加をさらに助長している。人口の高齢化の傾向は不可避であり、死亡率や出生率の更なる減少でその傾向が加速される中、慢性疾患有病率の増加を抑制することは中国の社会的および経済的發展において高齢化が与える総合的な影響を軽減させるための有望な一手段である。

アンチエイジング医学は予防医学としても知られてお

*浙江工業大学 教授

り、身体能力の低下、すなわち通常“自然な”加齢と考えられている現象を遅らせたり、止めたり、実質的に戻すことを可能にする。そうすれば、寿命が延びるだけでなく、最も望ましい健康状態や生活の質 (Quality of Life) にも恵まれる。中国ではこういった総合健康管理の要望が強い。なぜなら、国の健康問題が急速に増加したのは、平均余命がより長くなったこと (今や上海では 81 歳) のみならず、呼吸器系疾患やがん、糖尿病等の慢性疾患の有病率にもその原因があるからである。要するに、中国のアンチエイジング戦略は中国国民のためのみならず、全世界のアンチエイジング研究にとっても最も重要なものであると言える。

2. エイジング (加齢) の機序

(1) エイジング (加齢) の医学理論

エイジングのフリーラジカル理論は 1950 年代に Denham Harman によって初めて提唱され¹⁾、1970 年代にはミトコンドリアが生み出す活性酸素 (ROS) がそこに関わっていることがわかってきた²⁾。その後もエイジングの機序を明らかにしようと、ミトコンドリア DNA の損傷、架橋反応理論、生体膜損傷、遺伝プログラム理論等、次々に様々な理論が提唱された。これらの理論のうち、フリーラジカルとミトコンドリア損傷による酸化ストレスが今もなお老化の主要な要因であると考えられており、中国のアンチエイジング研究で広く受け入れられ用いられている。

西洋医学理論の他に、中国ではエイジングに関する数千年に及ぶ中国独自の漢方理論 (TCM) があり、異なる側面からエイジング機序を明らかにし、アンチエイジング物質を探索する研究として重要視されている。漢方において、紀元前 200 年に遡る「黄帝内経」以来、腎不全が老化の主要因であるとの考えがあり、「黄帝内経」では腎臓を鍛えることが重要であるとしている。漢方理論によると、腎臓は精を蓄え、水代謝を司り、気を掌握し、毛髪に影響が現れ、耳や生殖器に通じている。腎臓の機能低下はエイジングの根源と見なされ、ホルモン濃度の低下、エネルギーと活力の全般的な衰え、骨強度および密度の低下、生殖器の萎縮、月経周期の乱れ、排尿障害、歯が抜ける、四肢の痛み、難聴、白髪や薄毛等の兆候が現れる。陰陽理論と併せて、腎臓-気不全、腎臓-陽不全、

腎臓および脾臓の気不全、腎臓および脾臓の陽不全、腎臓-陰不全、腎臓および肺の陰不全、腎臓および肝臓の陰不全など、さまざまな視点からエイジング理論を解明しようと、数多くの研究が実施された。これらのさまざまな医学理論を基に、中国のアンチエイジング研究はエイジング機序のさらなる理解と有用なアンチエイジング物質の探索の双方において大幅に進歩しつつある。

(2) *Klotho* 遺伝子とエイジング

マウスにおいて *Klotho* 遺伝子発現欠損は、短命、不妊、動脈硬化、皮膚萎縮、骨粗鬆症および肺気腫等、ヒトのエイジングと似た症状、を引き起こす症候群となる。*Klotho* 欠損マウスにおける 2 つの注目すべき変化として動脈硬化と内皮細胞機能不全があり、これら 2 つは本態性高血圧の主要な病因である。中国人民解放军第三军医大学の研究者たちはヒト *Klotho* 遺伝子の G-395A 遺伝子多型が本態性高血圧症の潜在的な調節部位であることを突き止めた³⁾。

Klotho 遺伝子の機能とエイジング機序をより深く理解するため、*Klotho* 遺伝子プロモータ活性を調節する化合物を同定するために、ハイスループット薬物スクリーニング用の細胞ベース分析法が重慶大学により確立された。この分析法で他の天然物の抽出物についても、その抽出物の示す作用を引き起こす活性型化合物を単離し同定することが可能となるかもしれない⁴⁾。

加齢に関連した DNA 損傷は多くのがんにおいて顕著な特徴であると思われる。加齢と腫瘍形成の関連性は密接だがかなり複雑化している。近年、*Klotho* 遺伝子機能の損傷がエイジングの進行を誘導するだけでなく腫瘍形成にも関与していることを実証する証拠が増えている⁵⁾。*Klotho* 遺伝子は正常体と比べ乳がん組織においてその発現が低下していることが見出されており、*Klotho* 遺伝子の過剰発現により乳がん、肺がん、子宮頸がんの細胞株の細胞増殖が抑制される⁶⁾。浙江省大学の研究者たちは *Klotho* 遺伝子と結腸直腸がんとの関連性を実証した。これは *Klotho* 遺伝子はプロモータの過剰メチル化により不活性化されること、ならびに *Klotho* 遺伝子が結腸直腸がんにおいて潜在的な腫瘍抑制遺伝子として機能していたことを示唆するものである⁷⁾。*Klotho* 遺伝子群の更なる研究により、種々の代謝過程やエイジング過程における内分泌調節に関して新たな識見が得られることが期待される。

(3) SIRT1 とエイジング

SIRT1 は多種多様な動物種で寿命の調節の役割を果たす、長寿の重要な決定遺伝子である。この遺伝子に関しては広範な研究が成され、加齢を遅らせる働きを持つことが示されている。しかしながら、SIRT1 が非ストレス状態でのヒト二倍体線維芽細胞の生存能力や加齢に影響を及ぼす機能を有しているか否かは全く分かっていない。Tong らはヒト線維芽細胞に SIRT1 を強制発現させると、細胞増殖を促進し、遅延老化関連 β ガラクトシダーゼ (SA- β gal) 染色陽性の特徴とする細胞老化に拮抗し、老化特異的なヘテロクロマチン (SAHF) の形成や G1 期停止を低減し、細胞増殖率や細胞寿命の延長を増加させることを示した⁸⁾。更なる研究により SIRT1 による老化の遅延は p16^{INK4A}/Rb 経路の下方調節と ERK/S6K1 シグナルの活性化に関与していることが示されている。老化細胞における SIRT1 依存性の ERK/S6K1 シグナルの低下は、数回継代したヒト二倍体線維芽細胞における細胞発達の喪失と細胞老化に寄与しているかもしれない。

加えて、エイジング (加齢) 中に SIRT1 がどのように制御されているかも十分にわかっていない。Tong らは PPAR γ が転写レベルにおいて SIRT1 発現を抑制し、それには脱アセチル化も含まれることを示している。さらに、PPAR γ と SIRT1 はともに SIRT1 プロモータに結合できる。PPAR γ は SIRT1 と直接相互作用し SIRT1 活性を阻害し、負のフィードバックと自己調節ループを形成する⁹⁾。このモデルにより、健康な場合と病気の場合の両方における細胞老化に関連した、遺伝子と環境との相互作用を観察する機会が得られるかも知れない。

Zu らは肝臓キナーゼ B1 (LKB1) が SIRT1 の細胞内標的である可能性を見出した¹⁰⁾。さらに、SIRT1 の保護活性の少なくとも一部は、アセチル化/脱アセチル化の状態の微調整や、LKB1 を介した AMPK シグナル経路と拮抗する LKB1 タンパク質の安定性によってもたらされるかもしれない。SIRT1 の特異的な機序に関する更なる研究が必要であり、SIRT1 が新たなアンチエイジング薬の標的として用いられるかもしれない。

(4) miRNA (micro-RNA) とエイジング

miRNA とエイジングの関連性は十分に理解されていないものの、いくつかの研究から miRNA が細胞周期の

進行、増殖、幹細胞性遺伝子発現およびストレスで誘導された応答性に関与しているとする証拠が示されている。miRNA の中にはがん抑制因子あるいはがん原遺伝子も存在するので、特定の miRNA がエイジングの重要な決定遺伝子である可能性がある。

中国科学院はその遺伝子と miRNA 発現について、代表的な副睾丸をヒトの一生にわたって調査し、新生児の副睾丸では mRNA は最も少ないが最多数の miRNA を発現しているのに対し、成人と老人では多くの mRNA が発現し miRNA は最も少なく、エイジングに関しては mRNA と miRNA との間に逆相関の関係があることを見出している¹¹⁾。また、ヒト副睾丸において発達やエイジング過程に伴い一過性でアンドロゲン依存性の遺伝子/miRNA 発現が伴うとの新たな知見を見出した¹¹⁾。

Bai らは、ミトコンドリアに局在するスーパーオキシドジスムターゼ 2 (SOD2) が miR-355 の、チオレドキシンレダクターゼ 2 (Txnrd2) が miR-34a の潜在的な標的であることをバイオインフォマティクス分析により示唆している¹²⁾。ミトコンドリアの抗酸化性酵素である SOD2 と Txnrd2 が関与する細胞内の経路を miRNA が阻害することにより腎臓のエイジングにつながるらしいことも示された。

厦門 (あもい) 大学の研究で、発がん遺伝子により誘導された老化を抑制する miR-17-92 の役割が示され、miR-17-92 の抗老化活性が miR-17/20a 複合体を介していることが示された¹³⁾。さらに、miR-17-92 群とその miR-17/20a 複合体が少なくとも一部は効果遺伝子である p21^{WAF1} を直接標的とすることで、発がん遺伝子により誘導された老化に対する抵抗性を付与していた。エイジングと miRNA の分子レベルでの研究によりエイジング機序の、より包括的な理解が可能となり、その結果、我々の生活の質を低下させるこの普遍的な過程の改善に役立つものと思われる。

3. エイジング (加齢) の実験モデル

実験用マウスは生物のエイジング機序の研究に有用なモデル系である。種々の老化特性を有する多くの近交系のマウス系統が確立され寿命の遺伝研究に用いられている。例えば、老化を促進させたマウスモデルの老化促進マウス (SAM) 系統は、SAMP (老化促進) と SAMR

(老化抵抗性) の二つの系からなり、日本やアメリカをはじめ多くの国々で広く用いられている系統である。その他に、*Klotho* 遺伝子変異マウス、条件付き Mn-SOD 遺伝子欠損マウス、老化マーカータンパク質 -30 (SMP30) 遺伝子欠損マウスなども老化やエイジングに関連した疾患の機序を調べるために用いられている。

1985 年、中国において、低濃度の D-ガラクトース (D-gal) をマウスに注入すると神経障害、抗酸化酵素活性の低下、免疫低応答性といったエイジング促進と似た症状を誘導できることが初めて報告された^{14,15)}。このモデルはその後、エイジング研究や薬物試験に広く用いられている。過去数十年間に、このモデルを用いて数百もの論文が中国の医学文献に登場した。

我々の研究で、慢性的 D-gal 処理と jet-lag 暴露を組み

合わせることで老化促進モデルにおいて酸化的ダメージを立証するためにより効果的であることを見出した¹⁶⁾。簡潔に述べると、12 週齢の ICR マウスを対照群 (C)、D-gal (500 mg/ 体重 Kg) 処理群 (D)、12 時間の昼夜逆転を 3 日ごとに 1 回行った jet-lag 暴露群 (L)、および D-gal 処理と jet-lag 暴露の双方を行った群 (D+L) の 4 群に分けた。D-gal 処理を jet-lag 暴露と同時にを行うと、肝臓中の抗酸化機能を有する遺伝子の mRNA レベルが減少し、腎臓の *Klotho* 遺伝子発現が低減し、肝細胞ミトコンドリアの総抗酸化能 (T-AOC) の低下が見られた (図 1) が、jet-lag の負荷のみではエイジング過程が促進している状態において運動性筋肉機能には何の影響も見られなかった。これらの結果から jet-lag は D-gal で誘導したエイジング過程を促進できることが示唆された。

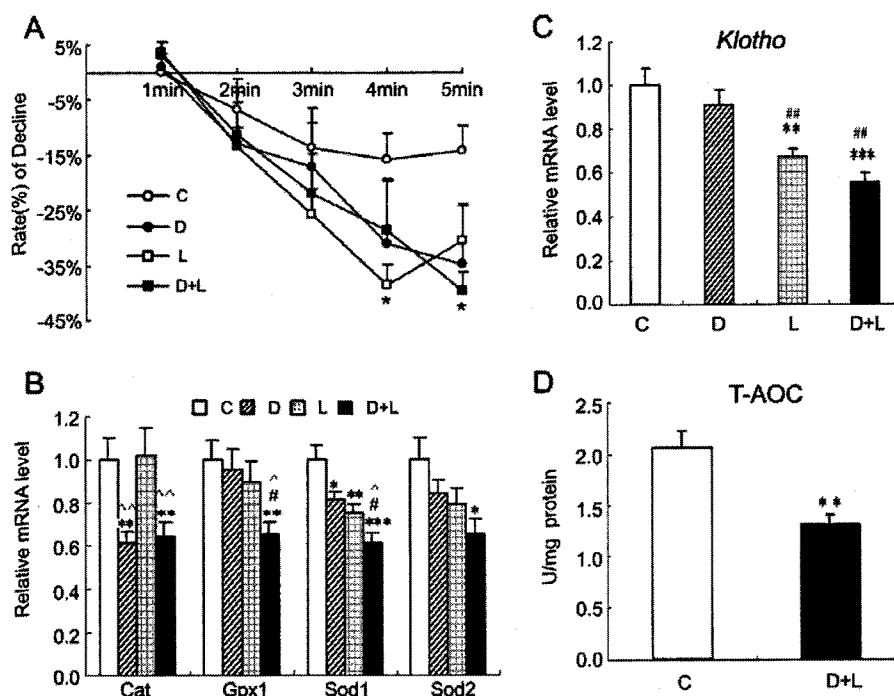


図 1 時差ぼけ負荷、D-gal 処理、あるいはその双方による (A) 水泳試験による運動性筋肉機能、(B) 肝臓における抗酸化遺伝子群発現、(C) 腎臓における *Klotho* 遺伝子発現、(D) 肝細胞内のミトコンドリアの T-AOC に及ぼす効果データを平均値±標準誤差で表す。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (対照群に対して)

$P < 0.05$, ## $P < 0.01$ (D-gal 処理群に対して)

^ $P < 0.05$, ^^ $P < 0.01$ (jet-lag 暴露群に対して)

Figure 1 Effect of jet lag, D-gal or both exposures on (A) the locomotive muscular function by swimming test, (B) antioxidant genes expression in liver, (C) *Klotho* gene expression in kidney, (D) T-AOC of mitochondria in hepatocytes. Data represents as mean \pm SE. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ versus C; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ versus D; ^ $P < 0.05$, ^^ $P < 0.01$ versus L.

D-gal で誘導したエイジングモデルに加えて、エイジング過程を促進する免疫不全状態や免疫欠損症を引き起こす胸腺摘除ラットモデルのような別の動物モデルや、フリーラジカル理論に基づいた酸化的ダメージを誘導するオゾン吸入やγ線照射も、中国においてエイジングモデル確立のために用いられている。

4. 中国人アンチエイジング研究の進捗

(1) 遺伝子多型と自然寿命

中国では、高齢者たちはその年齢により異なる要因の影響を受けているかもしれない。65 歳以上の集団の分布は東から西に行くに従い減少し、経済的要因により強く影響されていると思われる。しかしながら、100 歳以上の集団では、環境的要因がより強く影響していると思われる。10 万人当たりの 100 歳以上の人数は 65 歳以上の割合と反対で、その傾向は西から東に行くに従い減少している。一方、100 歳は長寿の極みを代表し、ヒトの長寿研究の最も望ましい集団である。新疆ホータン市の 100 歳人口数とその割合は全国の平均よりも高く、世界 4 大長寿地域の一つとして分類されている。なかでも、環境、生活特徴様式および生活習慣によりこの長寿地域に暮らしているウイグル人は、遺伝的に隔離された民族であり長寿研究にとって貴重な遺伝的資源である。

新疆医科大学の研究者たちは遺伝子多型と長寿の関連を調べている。彼らは新疆ホータン市のウイグル人に見られる、mtDNA 中の 5178A/C の AA 遺伝子型および 10398G/A 多型の GG 遺伝子型、HSP 遺伝子内のプロモータ 2437G/A 多型の AA 遺伝子型、および UCP2 遺伝子内のプロモータ 866G/A 多型の AA 遺伝子型が長寿にとって有利な因子であることを見出している。これは、長期にわたって遺伝的に隔離された結果と考えている。その他 TERT 遺伝子の rs2736100 および rs2075786 多型と同様、VEGF 遺伝子の rs2146323 多型も血管機能への効果を介して長寿に関与しているものと思われる。

(2) アンチエイジング医学

近年、生命科学やバイオテクノロジーの進歩は中国のアンチエイジング医学の研究を強力に支えてきた。食事制限療法、抗酸化処理およびホルモン療法は既に近代のアンチエイジングに有効な方法であると位置付けられて

いる。鉄、セレン、マグネシウム、マンガン、銅、亜鉛など長寿に関連した微量栄養素の日常的な摂取は、抗酸化効果をもたらすと同時に多くの臓器の機能にとって必須なものである。中国市場ではこれら微量栄養補助剤の大半は、例えばセレン錠剤、亜セレン酸ナトリウム錠剤、高齢者用カプセルなどの配合製品に用いられている。その他マルチビタミン配合製品など、ビタミンや微量栄養素配合製品もまた国内や海外で高齢者の日常の栄養素補給を満たすために一般的に用いられている。あらゆるホルモン療法の中で、メラトニンはエイジング過程を遅延し隠された病状を標的とする目されている、最も有力な候補因子である。Nao-Bai-Jin（脳の白金を意味する）は中国における機能性製品で、メラトニンが主な成分である。本品は睡眠障害やアンチエイジングを改善することに絶大な効果を有すると謳っている。これは世界中の一般消費者から高く称賛され評価されており、この商品名もおなじみになっている。

さらに、中国の研究者は過去数十年に様々な疾患を治療するため漢方を利用し、大きな進歩を遂げてきた。その中でも最も有名かつ一般的なものの一つにゴジベリー（クコの実）があり、欧米諸国でも健康食品として販売されている。そして今世紀初頭から、健康のため、あるいはアンチエイジング治療薬として広告やメディアにもてはやされている。この果実の研究は“Lycium barbarum 多糖体”として知られているプロテオグリカンに焦点が当てられており、この物質は抗酸化特性と動脈硬化や糖尿病などの加齢に関連した疾患状態に対していくつかの興味深い薬理活性を示す¹⁷⁾。その他によく知られている漢方として朝鮮人参があり、これは抗酸化、抗炎症、抗がん、免疫賦活およびアンチエイジング活性を有すると信じられている種々のギンセノサイド（人参サポニン）を含む、多くの生物活性を有する物質を含有している¹⁸⁾。なかでもオタネニンジンは中国やアジア、欧米諸国で中国医薬として最も広く用いられている。臨床研究結果からオタネニンジンは心理学的機能や免疫機能および糖尿病に伴う症状を改善することが実証された¹⁹⁾。マンネンタケ属は霊芝という名前の方がより広く知られているが、健康と長寿の促進を目的として使用される硬くて苦いキノコである。霊芝は疲労を和らげ、コレステロール濃度や血圧を低下させ、炎症を抑制し、免疫機能を増強させることができる。これには 4 つの新規エルゴステロール誘導体で *UTH1* の発現を調節することにより

酵母の寿命を延長させることができる、ganodermaside A, B, C, D があることが認められた^{20,21)}。マツブサ属、中国アンゼリカ、房咲きタデの塊茎、トウジンなど他の漢方も脳や肝臓の SOD 活性を改善しフリーラジカルを除去すると信じられており、エイジング過程を遅らせる。

一方、薬草療法は普通は処方に基づき、一つの薬草だけではめったに使用しない。漢方論理は全ての医薬物には長所と短所があると考え、処方中の各漢方は量と質に注意深くバランスを取り、副作用を抑えながら治療効果を増幅させることで、アンチエイジングにより広く用いられている。地黄根茎、サンシュユ、ナガイモ、オオバコ根茎、アナタケ属、牡丹皮の6成分からなる地黄丸薬は、神経衰弱、糖尿病、甲状腺機能亢進症、アジソン病、慢性腎炎、慢性的な尿路感染、高血圧などのエイジングに関連した疾患を抑えるために用いられる。薬に配合された加工地黄根茎およびナガイモもフリーラジカル除去能があると考えられている。チョウセンニンジン、巨頭ジャクジュツ、アナタケ属、炒った甘草を含む四君子湯は、顔色の悪いとき、弱々しい声のとき、四肢脆弱、食欲減退、弱脈に用いられており、これらは全て高齢期にも当てはまる状態である。

しかしながら、薬草混合物は非常に多くの成分からなり、かつ成分比や製法も複雑であるため、その有効性を保つため様々な加工技術が発達してきた。Qingchunbao (青春宝) というアンチエイジング錠はその名の示す通り、若さの持続とエイジングの遅延という特有の効果を有する薬である。この薬は以前には中国明朝皇帝の秘薬であり、チョウセンニンジン、地黄、天門冬、麦門冬、クコ皮、アナタケ属を含有する配合物である。これは生命力を供給し、生命エッセンスを付与および精神的ストレスを軽減することができる。一般に生命力および生命エッセンスが衰えたり、精神の虚弱、疲労、耳鳴り、記憶力低下、動悸、息切れ、めまい、寝汗、不眠症のような症状を持っている高齢者および中年の人々に用いられる。

(3) アンチエイジング機能性食品

アンチエイジングの機能性食品はヒトの健康にとって生化学的および生理学的に有益な機能を有する1つあるいはそれ以上の物質からなる食品であり、体のある生理機能を変化させることにより加齢に関連した機能障害や疾患を予防するのを助けられると思われ²²⁾。人々の生活環境が改善されるに伴い、中国人はより生活の質に興味

を持ち、そのことで機能性食品の巨大な市場が発展している。フラボノイド、ブドウ／ワインポリフェノール、ビタミンE、クロロフィリンおよび他のフェノールは、生体膜に見られる多価不飽和脂肪酸を酸化から守ることができ、ミトコンドリアや他の生体膜の破壊を避ける²³⁾。ミトコンドリアの障害を防いだり回復させたりすると思われる機能性を有する他の食品成分として、コエンザイムQ10 (ユビキノール)、L-カルニチン、リポ酸、ニコチンアミドやカルノシンがある²²⁾。

抗酸化物質は、寿命を延ばすというよりも、健康な加齢に負の影響を及ぼすフリーラジカルを制御するという点で有用である。抗酸化物質は抗酸化遺伝子発現を誘導すると考えられており、低密度リポタンパク質 (LDL) コレステロールを酸化から防ぎ、肝臓や脳および心臓に対し抗アポトーシスを示す²⁴⁾。中国の研究者たちは積極的に同様の酸化抑制特性を有する食品中の天然素材を探索している。クルミポリフェノール、エキストラバージンオリーブオイル中のフェノール類および α -トコフェロール、ナッツ中の ω -3系脂肪酸およびセレンウム、トマトベース食品中のリコペン、カテキン豊富なお茶、および大豆イソフラボンなど、これら全てはエイジングに関連した慢性疾患のリスク要因とある程度、逆相関を示した²²⁾。トコフェロール、カロテノイド、緑茶ポリフェノールおよび植物エストロゲンのような抗酸化物質は酸化された細胞の傷や炎症反応を軽減し、脳の健康を改善することも報告されている²⁵⁾。我々の研究では、アスタキサンチンと *Musca domestica* larvas の粉末が血清中の抗酸化酵素活性の低下を防ぐことができることを見出している。一方で、それらはD-gal と jet-lag で誘導した抗酸化遺伝子、エイジングバイオマーカーである β -ガラクトシダーゼと *Klotho* 遺伝子の発現も下方調節することができる。これらの結果は全て、双方の機能性物質は抗酸化特性とアンチエイジング特性を有していることを意味している。

中国薬膳料理は世界でもユニークなものであり、幾世代も前から続いている。漢方理論に基づいて、薬膳料理は健康の質を保つおいしい食品を作り出すために伝統的食材と漢方材料とを組み合わせている。漢方療法と食料品との組み合わせは不快な匂いを隠すためばかりではなく薬効も強化する。薬膳料理を作る時、様々な上質な食材が選ばれ、各々の食材は独特の匂いを有する。機能別に、薬膳料理は4種類に分類される。すなわち、健康保

護料理、予防料理、治癒料理、および治療料理である。健康保護料理は健康を維持するための栄養食品のことを指す。シシウドやコイのスープは気と血液をきれいにできる。チョウセンニンジン粥はより体力を付けることができる。予防料理は潜在的な病気への抵抗性を培う。緑豆スープは夏の熱射病から保護すると考えられている。ハスの実、ユリ、ヤマノイモ、クリ、およびセイヨウナシは秋の乾燥予防および冬の寒さへの抵抗性強化を補助することができる。治癒料理は重篤な病気からのリハビリテーションのための医療食である。バラで炙った羊の心臓とかアンゼリカで蒸し煮した羊肉は健康の再構築を手助けすると思われる。治療料理は特異的な病態を目的とする。食用酢をかけたフライドポテトは胃を活気づけ高血圧を抑えることができ、ブッポウソウ入りのコイスープは腫脹軽減を補助するため血漿アルブミン濃度を高くするかもしれない。

5. 結語

実際、中国人は昔から絶えることなく不老不死の食品を見つけようとし、それは今日の世代にあっても重要な推進力を持っている。これは中国人から始まったことであり、今や世界的な関心事である。アンチエイジング戦略は進化しているが、未だその努力は古代中国の概念、すなわち発見と発明とに深く根付いている。様々なアンチエイジング調査プロジェクトが進められた結果、この分野の医学は常に盛んであった。今のアンチエイジング研究の焦点は、エイジングに関わる一連の流れの単なる予防や遅延から、エイジング過程そのものを止めるというより大きな目的へと移行している。アンチエイジング製品ならびに治療法には、栄養計画、運動養生法、スキンケア、ホルモン補充療法、ビタミン類、薬草類、サプリメント類が含まれる。これらは必ずしも一個人の寿命を延ばすとは限らないが、加齢による外的徴候を軽減したり消失させたりする点において役には立つかも知れない。しかし、一方では、「アンチエイジング薬」を用いている 65 歳以上の人々は、実験的・臨床的老年学の新たな挑戦を行なっているわけであり、それについては包括的かつ計画的で慎重な調査が必要である。

＜参考文献＞

- 1) Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11:298-300.
- 2) Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc* 1972; 20:145-7.
- 3) Wang HL, Xu Q, Wang Z, *et al.* A potential regulatory single nucleotide polymorphism in the promoter of the Klotho gene may be associated with essential hypertension in the Chinese Han population. *Clin Chim Acta* 2010; 411:386-90.
- 4) Xu ZL, Gao H, Ou-Yang KQ, Cai SX, Hu YH. Establishment of a cell-based assay to screen regulators for Klotho gene promoter. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25:1165-70.
- 5) Wang YA. Klotho, the long sought-after elixir and a novel tumor suppressor? *Cancer Biol Ther* 2006; 5:20-1.
- 6) Lee J, Jeong DJ, Kim J, *et al.* The anti-aging gene KLOTHO is a novel target for epigenetic silencing in human cervical carcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9:109.
- 7) Pan J, Zhong J, Gan LH, *et al.* Klotho, an anti-senescence related gene, is frequently inactivated through promoter hypermethylation in colorectal cancer. *Tumour Biol* 2011; 32:729-35.
- 8) Han L, Zhou R, Niu J, McNutt MA, Wang P, Tong T. SIRT1 is regulated by a PPAR{gamma}-SIRT1 negative feedback loop associated with senescence. *Nucleic Acids Res* 2010; 38:7458-71.
- 9) Huang J, Gan Q, Han L, *et al.* SIRT1 overexpression antagonizes cellular senescence with activated ERK/S6k1 signaling in human diploid fibroblasts. *PLoS One* 2008; 3:e1710.
- 10) Zu Y, Liu L, Lee MY, *et al.* SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circ Res* 2010; 106:1384-93.
- 11) Zhang J, Liu Q, Zhang W, *et al.* Comparative profiling of genes and miRNAs expressed in the newborn, young adult, and aged human epididymides.

- Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2010; 42:145-53.
- 12) Bai XY, Ma Y, Ding R, Fu B, Shi S, Chen XM. miR-335 and miR-34a Promote Renal Senescence by Suppressing Mitochondrial Antioxidative Enzymes. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:1252-61.
 - 13) Hong L, Lai M, Chen M, *et al.* The miR-17-92 cluster of microRNAs confers tumorigenicity by inhibiting oncogene-induced senescence. *Cancer Res* 2010; 70:8547-57.
 - 14) Lu J, Zheng YL, Wu DM, Luo L, Sun DX, Shan Q. Ursolic acid ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage in the brain of senescent mice induced by D-galactose. *Biochem Pharmacol* 2007; 74:1078-90.
 - 15) Zhang XL, Jiang B, Li ZB, Hao S, An LJ. Catalpol ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage in the brain of senescent mice induced by D-galactose. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 88:64-72.
 - 16) Xu Y, Wu T, Jin Y, Fu Z. Effects of age and jet lag on D-galactose induced aging process. *Biogerontology* 2009; 10:153-61.
 - 17) Potterat O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. *Planta Med* 2010; 76:7-19.
 - 18) Cho S, Won CH, Lee DH, *et al.* Red ginseng root extract mixed with *Torilis fructus* and *Corni fructus* improves facial wrinkles and increases type I procollagen synthesis in human skin: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Med Food* 2009; 12:1252-9.
 - 19) Kiefer D, Pantuso T. *Panax ginseng*. *Am Fam Physician* 2003; 68:1539-42.
 - 20) Weng Y, Lu J, Xiang L, *et al.* Ganodermasides C and D, two new anti-aging ergosterols from spores of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011; 75:800-3.
 - 21) Weng Y, Xiang L, Matsuura A, Zhang Y, Huang Q, Qi J. Ganodermasides A and B, two novel anti-aging ergosterols from spores of a medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* on yeast via UTH1 gene. *Bioorg Med Chem.* 2010; 18:999-1002.
 - 22) Ferrari CK. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. *Biogerontology* 2004; 5:275-89.
 - 23) Bloor KK, Kamat JP, Devasagayam TP. Chlorophyllin as a protector of mitochondrial membranes against gamma-radiation and photosensitization. *Toxicology* 2000; 155:63-71.
 - 24) Beppu M, Watanabe T, Yokota A, Ohmori S, Kikugawa K. Water-soluble antioxidants inhibit macrophage recognition of oxidized erythrocytes. *Biol Pharm Bull* 2001; 24:575-8.
 - 25) Bates CJ, Benton D, Biesalski HK, *et al.* Nutrition and aging: a consensus statement. *J Nutr Health Aging* 2002; 6:103-16.

■アンチエイジング研究の世界動向

カロリー制限によるメタボリズムとアンチエイジング

ロザリン・M・アンダーソン*

加齢研究の第一歩は老化過程自体の生物学的な複雑さを理解することから始まる。75 年以上前に、カロリー摂取を減少させるという一見単純な方法で、老化や加齢に伴う疾患の発症を遅延させることがマウスを使った実験により判明した。それ以来、栄養不良状態とならない程度のカロリー制限 (Caloric restriction; CR) は、多種多様な生物の健康維持期間や生存期間を改善するための最も強健で一貫した介入方法であることが示されている。CR に関する研究の目標は、生活スタイルの選択肢の一つとして CR を奨励することにあるのではなく、むしろ老化過程や、加齢により疾病にかかりやすくなる根本的な生理学的変化に対し、新たな見識を得るための手段として用いることにある。

CR により明らかに見られる現象として、糖調節機能の改善や脂肪の減少、ミトコンドリア機能の保全がある。カロリー摂取と寿命の延長との間に逆直線相関が見られたことから、CR ではエネルギー代謝制御因子が重要であることが示唆されている。CR により、健康と寿命を延ばす新たなエネルギー代謝が導かれると我々は提唱している。この新たなエネルギー代謝を設定するうえで大事なものは、白色脂肪組織の代謝と全身性シグナル伝達に及ぼす CR の影響にある。マウスとサルを用いた我々の研究により、栄養素感受性調節因子は CR による抗加齢療法に機構的に関与し、加齢に関連した多発的な疾患や障害の処置に効果的な標的となりうることを示唆されている。

1. はじめに

哺乳動物において寿命の延長、加齢に伴う疾患の発症

を遅延させることに対する CR の影響については、1935 年に初めて論文に発表されたり。数十年経過したにもかかわらず、CR がどのように長寿や健康を促進するのかそのメカニズムは未解明のままである。加齢それ自身は、がん、心臓血管疾患や糖尿病を含む一連の疾病の最も顕著なリスク因子となっている²⁾。CR のメカニズムの解明は、加齢進行を理解するための決定的な手掛かりを提供し、疾患予防の新たな標的を同定することになるであろう。加齢により疾病になりやすくなることに関して大いに理解を深められる可能性があるため、CR の作用機序を研究する研究者の数の増加にもつながっている。1980 年代から、CR に関する年間論文数は劇的に増加しており、酵母、蠕虫、ハエと言った短命種における研究の急速拡大も、研究の加速化に一役かっている³⁾。さまざまな動物種において CR が加齢を遅らせ得るという事実は、進化の初期からあまり変化せずに保存されている加齢の、ある側面に、CR が影響を与えていることを示している。下記に述べるように、ミトコンドリアエネルギー代謝障害は、加齢共通の表現型であり、加齢と加齢に伴う疾病への罹りやすさを結びつけるものかもしれない。

ミトコンドリアの機能低下はさまざまな動物種や哺乳類のさまざまな組織において認められる加齢の特徴である。蠕虫やハエの遺伝子発現プロファイルと比較した初期の研究から、加齢に伴う変化には共通のパターンがあることが示された⁴⁾。加齢に伴い発現が低下するミトコンドリアエネルギー代謝にかかわる遺伝子群は進化の初期からあまり変化せずに高度に保存されていることが分かっている。マウスとヒトの転写データの比較により、哺乳類の組織では加齢に伴い、同じこのミトコンドリアエネルギー代謝に係る遺

*ウィスコンシン州立大学マディソン校 准教授

伝子群の発現が低下することが示されている^{5,6)}。細胞および組織レベルにおいて、ミトコンドリアの機能障害は単にエネルギー利用効率のみならず代謝の調節および統合にも影響を与える。ヒト骨格筋のミトコンドリアの機能は加齢により低下し⁷⁾、ミトコンドリアの機能不全がインスリン感受性の低下と関連しているため、筋肉内トリグリセリドと脂質の蓄積が増加する⁸⁾。加えて、神経変性疾患にミトコンドリアのある構成要素が関与しているという証拠がある。その神経変性疾患には、パーキンソン病⁹⁾、アルツハイマー病¹⁰⁾、およびハンチントン舞踏病¹¹⁾がある。これらの異なる疾患においてミトコンドリアの機能障害が共通しているということは¹²⁾、ミトコンドリアの能力が神経の機能や可塑性を維持するのに重要であるということを示唆している¹³⁾。これらの発見は、神経システムにおける加齢に伴う衰退もまた、ミトコンドリア機能障害に基づいたものかも知れないという可能性を提起している。心臓では、加齢によっても、また疾患時においても、ミトコンドリアのエネルギー代謝の調節がきかなくなるという現象が共通して見られる¹⁴⁾。以上のことから代謝機能障害は種を超えて、進化の初期からあまり変化せずに保存されてきた加齢に伴う要因であり、哺乳類においては代謝機能障害は加齢に伴う疾患に共通した症状であると言える。

2. CR のメカニズム

(1) CR は積極的な抗加齢作用を誘導する

CR による抗加齢作用は、CR を行っても通常の加齢は進むものの、その進み具合が遅くなるという消極的なものであるというのが、長年の一致した見解であった。しかしながら、2000 年代初頭に、酵母を用いた研究により CR には積極的な抗加齢作用があることが示唆された¹⁵⁾。この酵母モデルでは、CR によって代謝調節に関連した長寿プログラムが特異的に誘導される。今や我々は 1980 年代のマウスを使った古典的な研究に、こうしたより最新の CR 研究結果を適用することができる。食物摂取量が減少すると（ただし、栄養失調は避ける）、マウスの平均寿命も最長寿命も共に伸びる¹⁶⁾。カロリー摂取と寿命との逆直線相関は、エネルギー利用とエネルギー産生が CR の主要なメカニズムであることを示唆している。酵母を用いた研究知見から我々は、エネルギー

利用度の変化と加齢を遅らせ、疾病にかかりやすくなるのを防ぐ代謝プログラムの変化を誘導するのではないかと考えた¹⁷⁾。

(2) ミトコンドリアのエネルギー代謝

様々な組織の転写活性が加齢と CR によってそれぞれどう変動するかを調べた結果、エネルギー代謝に関わるタンパク質をエンコードする遺伝子に、遺伝子発現シフト現象が見られることが、マウスに CR を施した際の顕著な特徴であることがわかった。実際、CR によってミトコンドリアのエネルギー代謝が変動する現象はヒト¹⁸⁾を含めた様々な種において観察されている¹⁷⁾。これらの研究から推察するに、栄養感受性因子がエネルギー利用率の変化に対する反応を引き起こす主要な候補因子であることは、理にかなっている。我々は近年、酸化的ストレスに対するミトコンドリアの適応メカニズムを新たに発見したが、そのメカニズムは CR においてもしかるべき役割を果たしている¹⁹⁾。この経路は核内受容体転写補助活性化因子 PGC-1 α に集中している。PGC-1 α はミトコンドリアエネルギー代謝の中心的な調節因子で、その活性は栄養感受性 NAD 依存性脱アセチル化酵素 SIRT1 と栄養感受性リン酸化酵素 GSK3 β を介して調節される。まとめると、これらの知見は、ミトコンドリアの適応が CR による加齢遅延のメカニズムにおいて果たしている、中心的な役割を示している。

この十年の間に、高齢の動物や CR を施した動物の組織から、数多くの遺伝子発現データが採取された。古典的なアプローチでは、対照食あるいは自由食を与えた高齢動物と、同じ週齢の CR 動物とを比較し、その後、その双方を若齢動物と比較してきた。これらの研究において遺伝子発現における加齢による変化は容易に同定されたが、CR 動物の所見の解釈はより複雑である。高齢の CR 動物では、二つの転写変化が観察された。一つは加齢による変化に相対する遺伝子発現のシフトであり、二つめは加齢遺伝子とは無関係の、CR によって変化した遺伝子である。後者の変化には CR のメカニズムに関する手掛かりがあるかも知れず、長寿プログラムにまつわる要因の正体が明らかになるかも知れない。非加齢動物に対して CR を施し誘導された遺伝子発現の変化を研究する、新たなアプローチが進められている。白色脂肪組織に対する CR の影響を見るためにこの研究を利用したところ、以下のように非常に多くの知見が得られた。

(3) 脂肪組織の活性化

脂肪組織は、不要な脂肪を溜めておく不活性な貯蔵所であるどころか、内分泌組織として働き、生命体の代謝恒常性に関与している組織である^{20, 21)}。脂肪生成シグナルはエネルギーバランスと炎症に影響を及ぼし²²⁾、加齢に伴って起こる全身性の炎症傾向の増大にも寄与しているものと思われる。実際、加齢に伴い、体脂肪分布は好ましくならざる状態に変化し、脂肪の機能にも制御がきかなくなる²³⁻²⁵⁾。脂肪組織が全身の恒常性に一役買っていることは、過食がもたらす結果やそれによって肥満が生じることからも実証されている。メタボリックシンドロームはⅡ型糖尿病や炎症、高血圧症、および心血管疾患等の様々な症状の兆候となる²⁶⁾。重要なのは、これらの症状の多くはこれまで、加齢による症状と考えられてきた。これらの知見は、脂肪の機能障害が過食や加齢に伴い疾患にかかりやすくなる原因であることを示唆している (図 1)。

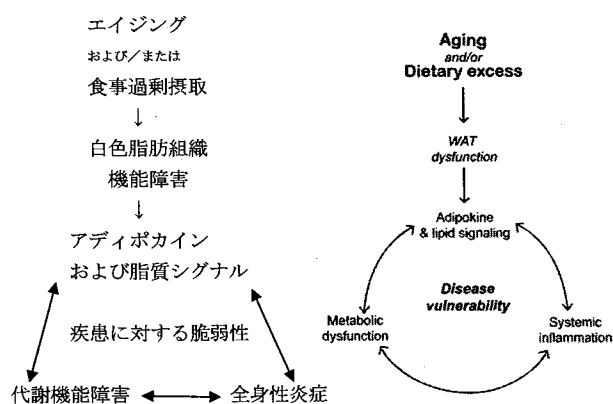


図 1 加齢あるいは食事が誘導する脂肪組織の機能障害を説明するモデル

Figure 1 Model describing how age or diet-induced adipose tissue dysfunction

マウスでは、CR により身体組成に明らかな変化が見られる。総体重の減少は通常 CR の度合い (すなわち、30% の食事制限は体重を最大 30% 低下させる) を反映しているが、組織間では、その重量の減り具合はまちまちである。マウス、サルおよびヒトに CR 食を与えると比例的に脂肪の減少量が増す (すなわち、30% の CR は最大 70% の脂肪減少を導く)。さらに、CR は、代謝遺伝子の著しい上方制御をはじめとする脂肪組織の形態的变化や転写変化を誘導する²⁷⁾。代謝遺伝子群においてはエネルギー代謝の再プログラム化とも合致する、酸化

的リン酸化に関わる遺伝子発現が連動して増加していることが認められている。さらに、CR 動物では対照動物に比べて、脂肪組織において 50 を超える炎症誘発遺伝子の発現が減少している²⁸⁾。これらのデータは CR 動物と対照動物とでは脂肪組織の機能が変ったことを示唆し、このことから我々は、CR による長寿プログラムの一つとして、脂肪組織機能の変化が疾患抵抗性を確立するための中心的役割を果たすというモデルを提唱した。

CR によりもたらされた白色脂肪組織の代謝シフトが脂肪酸の酸化能を増大させ、ミトコンドリアの機能変化による酸化障害を増大させることなく蓄積された脂肪を動員させる。シグナル伝達機能を有する脂肪酸はリポカイン (lipokine) として知られている²⁹⁾。生物活性を有するこれらの脂肪酸は、脂肪酸結合タンパク質を介して全身性の炎症に影響を与え、転写因子の核内受容体ファミリーに対する天然リガンドとして働いている³⁰⁾。脂肪組織は循環脂肪酸の主な供給源であり、脂肪組織代謝が変化すると血漿脂肪酸組成に影響が生じる²⁹⁾。この脂肪組織と血清脂肪酸組成の関連性から、脂肪組織の状態が全身の代謝に影響を与えるというメカニズムが示唆されている。ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 γ (PPAR γ) は、従来、ヒトの代謝性疾患に関与するとされてきた報告されている核内受容体ファミリーに属している³¹⁾。脂肪組織に由来する飽和脂肪酸は PPAR γ を通じて炎症やインスリン抵抗性を仲介する³²⁾。このように、加齢、もしくは過食、もしくは CR によって脂肪組織が変化すると、リポカイン産生およびシグナル伝達に変化し、代謝の恒常性と全身性の炎症状態に影響を及ぼす。

3. 健康とエイジングに対する見解

CR という食事介入はがんや心血管系疾患を含む加齢に伴う多くの疾患を防ぐ将来の健康管理法の道筋を示すかも知れない二つの包括的な考え方がある。まず一つは、健康と加齢に関して CR の有益な効果の基本メカニズムを検討し、そこで得られた知見を、疾患の予防や治療のための新たなターゲットを明らかにするために利用するというものである、脂肪組織を活性化する CR の効果を再現できるような化合物を同定することがその一例である。二つめの解釈は、疾病に対するかかりやすさの根底にある原因は、通常、栄養状態の変化に影響を受ける経路を

介して阻害され易いという観察に基づいている。これは疾患抵抗性を食事組成によって強化できる可能性を生み、そこでは CR の重要なメディエーターが、食事として自然に供給された栄養素シグナルによって左右される。

世界中で高齢者層が継続的に増加する中で、健康管理費用の増加を抑制する方法を見出すことは最重要課題となっている。CR がヒト以外の霊長類において健康や生存を改善するのに効果的であるとの最新の論証を受けて、(この方法が) ヒトの加齢にも大いに当てはめられるのではないかと主張されている³⁹⁾。CR に関する研究を継続することで、健康を改善し、加齢に伴う一連の疾患発症を遅延するための新たな処置法の開発が期待できる。

＜参考文献＞

- 1) McCay CM, Crowell MF, Maynard LA. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *J Nutr* 1935;10:63-79.
- 2) Masoro EJ. Physiology of aging. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001;11 Suppl:S218-22.
- 3) Mair W, Dillin A. Aging and survival: the genetics of life span extension by dietary restriction. *Annu Rev Biochem* 2008;77:727-54.
- 4) McCarroll SA, Murphy CT, Zou S, *et al.* Comparing genomic expression patterns across species identifies shared transcriptional profile in aging. *Nat Genet* 2004;36:197-204.
- 5) de Magalhaes JP, Curado J, Church GM. Meta-analysis of age-related gene expression profiles identifies common signatures of aging. *Bioinformatics* 2009;25:875-81.
- 6) Zahn JM, Poosala S, Owen AB, *et al.* AGEMAP: a gene expression database for aging in mice. *PLoS Genet* 2007;3:e201.
- 7) Short KR, Bigelow ML, Kahl J, *et al.* Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:5618-23.
- 8) Petersen KF, Befroy D, Dufour S, *et al.* Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003;300:1140-2.
- 9) Banerjee R, Starkov AA, Beal MF, Thomas B. Mitochondrial dysfunction in the limelight of Parkinson's disease pathogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2008.
- 10) Rhein V, Eckert A. Effects of Alzheimer's amyloid-beta and tau protein on mitochondrial function -- role of glucose metabolism and insulin signalling. *Arch Physiol Biochem* 2007;113:131-41.
- 11) Browne SE. Mitochondria and Huntington's disease pathogenesis: insight from genetic and chemical models. *Ann NY Acad Sci* 2008;1147:358-82.
- 12) Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005;58:495-505.
- 13) Mattson MP. Mitochondrial regulation of neuronal plasticity. *Neurochem Res* 2007;32:707-15.
- 14) Madrazo JA, Kelly DP. The PPAR trio: regulators of myocardial energy metabolism in health and disease. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44:968-75.
- 15) Anderson RM, Bitterman KJ, Wood JG, Medvedik O, Sinclair DA. Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 2003;423:181-5.
- 16) Weindruch R, Walford RL, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr* 1986;116:641-54.
- 17) Anderson RM, Weindruch R. Metabolic reprogramming, caloric restriction and aging. *Trends Endocrinol Metab* 2010.
- 18) Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, *et al.* Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Med* 2007;4:e76.
- 19) Anderson RM, Barger JL, Edwards MG, *et al.* Dynamic regulation of PGC-1alpha localization and turnover implicates mitochondrial adaptation in calorie restriction and the stress response. *Aging Cell* 2008;7:101-11.
- 20) Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548-56.
- 21) Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006;444:847-53.
- 22) Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity.

- Nat Rev Immunol* 2006;6:772-83.
- 23) Clement K, Langin D. Regulation of inflammation-related genes in human adipose tissue. *J Intern Med* 2007;262:422-30.
- 24) Das M, Gabriely I, Barzilai N. Caloric restriction, body fat and ageing in experimental models. *Obes Rev* 2004;5:13-9.
- 25) Kirkland JL, Tchkonja T, Pirtskhalava T, Han J, Karagiannides I. Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? *Exp Gerontol* 2002;37:757-67.
- 26) Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005;365:1415-28.
- 27) Higami Y, Pugh TD, Page GP, Allison DB, Prolla TA, Weindruch R. Adipose tissue energy metabolism: altered gene expression profile of mice subjected to long-term caloric restriction. *FASEB J* 2004;18:415-7.
- 28) Higami Y, Barger JL, Page GP, *et al.* Energy restriction lowers the expression of genes linked to inflammation, the cytoskeleton, the extracellular matrix, and angiogenesis in mouse adipose tissue. *J Nutr* 2006;136:343-52.
- 29) Cao H, Gerhold K, Mayers JR, Wiest MM, Watkins SM, Hotamisligil GS. Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell* 2008;134:933-44.
- 30) Haugen F, Dreven CA. The interplay between nutrients and the adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2007;66:171-82.
- 31) Semple RK, Chatterjee VK, O'Rahilly S. PPAR gamma and human metabolic disease. *J Clin Invest* 2006;116:581-9.
- 32) Kennedy A, Martinez K, Chuang CC, LaPoint K, McIntosh M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr* 2009;139:1-4.
- 33) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, *et al.* Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 2009;325:201-4.

■炭水化物研究部会

新しい血糖応答測定法を求めて —食品摂取による血糖値上昇の評価法—

木村 修一*

Glycemic Index (GI) 理論を提案したのはトロント大学の D. A. Jenkins 教授のグループ (1981 年) であり、炭水化物の生理的特性を示す非常によい指標として世界的に用いられている方法である。炭水化物を含む食品を食べた時の血糖値の上がり方を示すインデックスであることから、特に糖尿病との関係から関心をもたれ、炭水化物を含む食品の栄養生理学的評価に応用した報告が数多く発表されている。低 GI 食が生活習慣病発症のリスクを減らすという報告もあることから、現在では研究者でなくとも一般の人にも知られた言葉となっている。

特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) では、2001 年に、創立 20 周年記念イベントとして、「International Symposium on Glycemic Carbohydrate and Health (糖質 (Glycemic Carbohydrate) と健康)」というテーマで国際シンポジウムを行った。また、この数年前に、農林水産省からの Fund で私が責任者となり ILSI Japan のプロジェクト研究「医学的・栄養学的な見地からの砂糖の研究」を行った背景もある。このプロジェクトに協力していただいたトロント大学の H. Anderson 教授は、毎年 1 月に行われる ILSI の本部総会 (Annual meeting) で、糖類研究部会の座長を務めるこの分野での権威者であることから、上記の記念イベントでも再び協力を頂き、東京・青山にある国際連合大学を会場にして、世界各国の演者から興味ある報告をいただいた。

ILSI 本部総会の糖類研究部会に出席して、そのディスカッションの中で、私は GI についていくつかの問題点を感じていた。私の所属していた昭和女子大学でも、食材の食べ合わせや食事前の運動のあり方など、「食べ方」によって GI の結果が影響されるなどの検討をしていたが、そこでも問題点が一層強く印象づけられた。例

えば個人差があるため一つの食物の GI を設定するには 10 人以上の被験者が必要であり、それぞれのコントロール食 (グルコース) による測定も行うため延べ人数はその倍数となる。しかも一回の測定に各人が 7 回の採血を要するために被験者の負担が大きい。さらに測定前の運動量によっても測定値が変動すること、そして、炭水化物でも非消化成分を差し引いた試料を用意しなければならないことなど、実際に GI を設定するには苦勞が多い。炭水化物を分母とする単純なグルコースへの変換率ではないのか? 等の疑問も生じてくる。

食品摂取時の血糖値の上がり方の指標であれば、食品そのもののグラム当たりのグルコース・リリースの率を出すのは比較的簡単であり、その食品を食べた時の血糖値の上がり方をある程度予測するに充分ではないか?

GI は実際にヒトに与えたときの応答なので、生理的な指標としては重要であるが、例えばある食品を食べるとき、どの程度の血糖値上昇があるのかを知る上では、もっと単純な方法でこれをかなえる指標があってもいいのではないか、と考えるにいたったのであった。

これと似た指標の例がタンパク質の栄養価の評価指標にある。すなわち「生物価」と「タンパク価」(プロテイン・スコアとも言う) である。生物価は実際にタンパク質や食品を食べさせて尿や糞中に排泄される窒素量を測定し、どれだけ体内にタンパク質として取り入れられたかを示す指標であり、吸収されたタンパク質のうち、体内に保留された割合をパーセントで表すものである。すなわち動物 (人体) を介しての評価であり、ヒトにおけるタンパク質必要量などを決めるのに使われる方法である。ある食物のタンパク質を評価するとき、ヒトのタ

* ILSI Japan 理事長

ンパク質の合成に必要なアミノ酸、すなわち必須アミノ酸が量的にバランスよく含まれていれば、この生物価は高くなり、良いタンパク質として評価されることになる。

もう一つのタンパク質評価法は「タンパク価」と呼ばれるものである。食品のタンパク質の栄養価を評価するのに一般的に使われている方法で、生体を介することなく、その食品をアミノ酸分析器で測定し、必須アミノ酸の種類とその量を求めて、この結果が人間にとって必要な必須アミノ酸の質的量的バランスに近いかどうかを計測して指標を出すのである。人間にとって最も適切な必須アミノ酸バランスはFAO/WHOの合同専門家会議から国際的基準として示され、世界中で同じ標準値を用いている。「タンパク価」は分析によって導き出される方法で、その食品に含まれるタンパク質の必須アミノ酸が人間のタンパク質合成に理想的な必須アミノ酸組成（理想的な必須アミノ酸パターン）をどれだけ満たしているかを示す指標でもあるといえよう。「タンパク価」とは、この基準と照らし合わせて、それぞれの食品の必須アミノ酸のうち最も含量の低い第一必須アミノ酸の値が、基準値の当概アミノ酸の何パーセントに当たるかを示す数値である。「生物価」と「タンパク価」にはかなりの相関性があることが証明されており、食品のタンパク質の栄養価表示は、ほとんどこの「タンパク価」になっているのが現状である。

食品などのタンパク質の栄養評価に使われている「タンパク価」と同様な使い方で、食品中の炭水化物の栄養評価を、ここで提案する「GR」(Glucose Releasing Rate)で行えば効率がよいのではないかと考えて、このプロジェクトを進めてきたのである。

数多くの食品そのもののグラム当たりのグルコース・リリース率を出すのが比較的簡単であり、その食品を摂取したときの血糖値の上がり方をある程度予測できるのがGRの長所ではないかと考えている。ILSI Japan 炭水化物研究部会が独立行政法人 農研機構食品総合研究所と共同で3年を費やして開発した研究成果をここに発表し、将来は国際的な炭水化物食品の評価法にしたいと期待している。

■炭水化物研究部会

食品の血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発

熊井 英志*

1. 研究の背景

(1) 血糖値と疾患

食後の血糖コントロールは2型糖尿病等の疾病防止に重要である。また、糖尿病合併症の防止だけでなく、これに関連するメタボリックシンドロームや動脈硬化、さらにはこれらから派生し、死亡の主要な原因となる心疾患、脳血管系疾患の防止に関係するという多くの研究が発表されている。

Glycemic Index (GI) は食品の食後血糖値を予想する *in vivo* の測定法であり、食後血糖と疾病の関連を検討する際の重要なツールであり、概念として確立している¹⁾。しかしながら、GI 測定には被験者の採血が必要であり、精神的ストレス、コスト、時間等の制約がある。それゆえ、大きな努力が GI 測定に払われているが、多数ある世界中の多様な食品には対応できていない。また、ヒトを被検体としているため、測定値にバラツキが大きく、CV が 30% を越えることも珍しくない。さらには、GI が 100 となる標準食品も統一されていない。これらから GI が食品消費者に浸透するにはまだ時間を要するものと思われる。

(2) ILSI Japan と GR

このような状況の中、ILSI Japan 炭水化物研究部会は *in vitro* の食品血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発を開始した。約1年間 GR 法の方法論について議論し、2005年2月には GR 法の開発に関する「基礎調査報告書」²⁾ を発行した。議論では、GR 法は簡便かつ低コストで再現性の良い方法であるべきとの結論を得た。また、個別の食品だけではなく、定食等の一食分の食事でも測定でき

ることを目指した。これを受け、我々は2005年4月から2008年3月までの3年間、独立行政法人食品総合研究所と共同で GR 法の開発を行った。

2. GR 法の研究開発

(1) GR 法の先行研究と基本設計

In vitro の血糖応答性評価に関する先行研究は Granfeldt ら (1992 年)^{3,4)} の HI 法 (Hydrolysis Index 法) と Englyst ら (1999 年)^{5,6)} の RAG 法 (Rapidly Available Glucose 法) がある。しかしながら、いずれも十分な評価は得られていない⁷⁾。両法を検討後、操作の簡便性や結果の安定性を指標として、食品破砕法や各酵素反応条件等を検討により至適化し、生体内反応に対応した反応系を組み立てた。すなわち、生体内の消化反応過程である、口腔内反応 (咀嚼)、胃内反応、十二指腸内反応、小腸内反応を、それぞれ、ミンサー破壊、ペプシン反応、アミラーゼ反応、 α -グルコシダーゼ反応で模擬し (図1)、この順で反応を行うことにより、GR 法を設計した。

(2) 各消化反応の研究

1) α -アミラーゼ反応

図2にデンプン性食品の α -アミラーゼ反応を示した。反応速度は明らかに食品の GI を反映した。さらに、この α -アミラーゼの活性、安定性、至適 pH を検討し、GR 法に組み入れた。

2) α -グルコシダーゼ反応

GR 法に用いる α -グルコシダーゼを検索した。マルトースやスクロースを分解する酵素は多数あるが、その

*株式会社明治 研究本部 技術開発研究所 素材開発研究部 発酵技術G

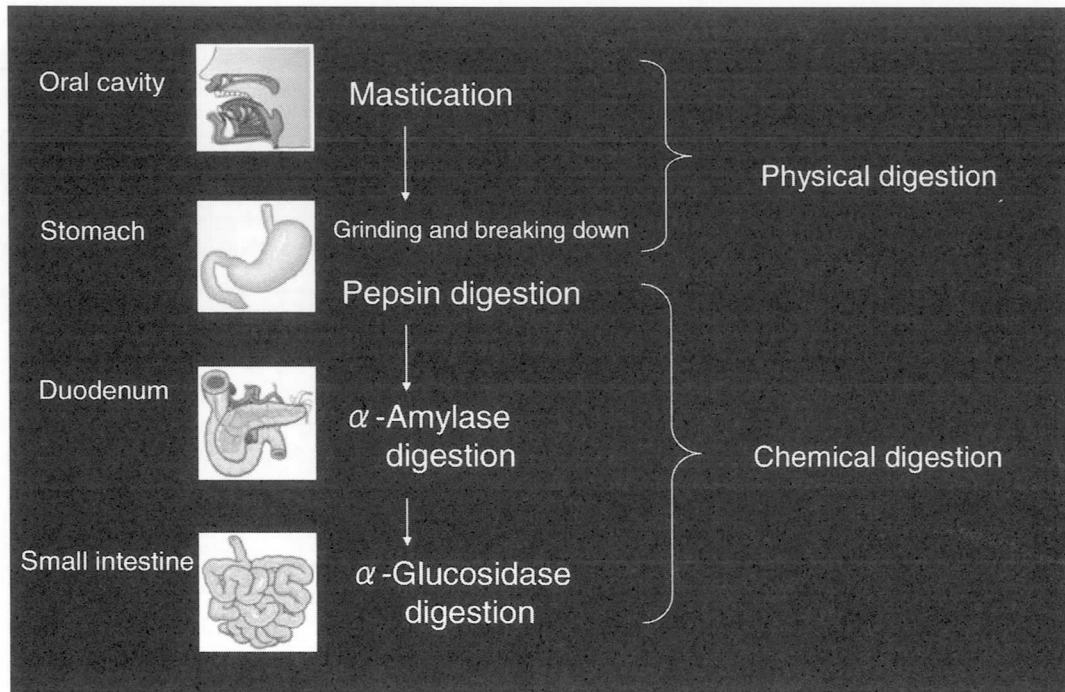


図1 消化プロセス

GR 測定法のための戦略。

Figure 1 Digestion Process

Strategy for GR measurement

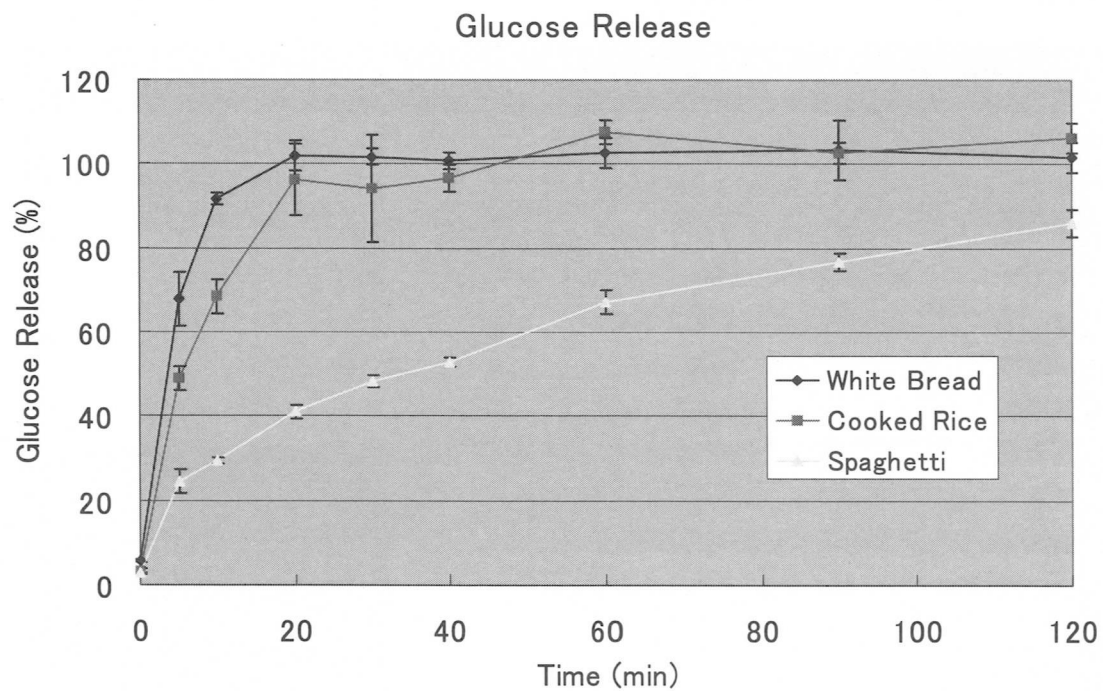


図2 デンプン性食品の α -アミラーゼ反応

◇, 食パン (GI95) : □, 炊飯米 (GI88) : △, スパゲッティ (GI65)

この *in vitro* のデータはデンプン性食品における GI の差異を反映している。

Figure 2 α -Amylase reaction of starchy foods

◇, white bread (GI95) : □, cooked rice (GI88) : △, spaghetti (GI65)

This *in vitro* data reflects differences of GI in starchy foods.

殆どは微生物由来であり、反応機構はヒトのものとは全く異なるものであった⁸⁾。この中で、ラット小腸アセトンパウダー (Rat Intestinal Acetone powder : RIA) はヒトの α -グルコシダーゼ反応阻害検討に用いられている^{8,9)} ため、GR 法への組み入れを検討した。RIA の α -グルコシダーゼ活性を調べたところ、マルターゼ、イソマルターゼ、スクラーゼ、ラクターゼ、トレハラーゼ活性が確認された (図 3)。各活性は弱かったが、創意工夫により RIA を GR 法に組み入れることができた。

3) 咀嚼を模した物理的消化反応

初期の研究で、物理的消化反応は化学的消化反応と同様に重要であることが判明していたため、食品や食事を破壊する装置をいくつか検討した。このうち、文献等の情報を基にミートグラインダー (図 4(a)) とホモジナイザー (図 4(b)) を 2 つの候補装置とした。ミートグラインダーの利点は簡便で扱いやすいこと、約 200 ドルと安価であること、方法論が文献¹⁰⁾ 等により支持されていること、さらには食素材がある程度大量になっても対応できることであり、ミートグラインダーは「食事」を破碎するのに適していると結論付けた。一方、ホモジ

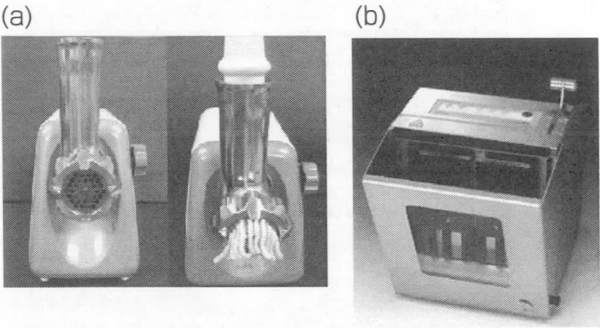


図 4 ミートグラインダーとホモゲナイザー

- (a) ミートグラインダー (MK-GL20W National)
(b) ホモゲナイザー (Ermex)

ミートグラインダーは肉挽きや他の食品や食素材に用いられている。上部口から食品を入れると、モーターによって出口に押し出され、内部カッターにより切断され排出される。ホモゲナイザーはストマッカーに似ており、食品を水と共にプラスチックバッグに入れてホモゲナイザーにセットすると、食品は破壊される。

Figure 4 Meat grinder and homogenizer

- (a) Meat grinder (MK-GI20W National)
(b) Homogenizer (Ermex)

Meat grinder is used for grinding meat, and other foods or ingredients as well. When a food is put into meat grinder from the top of it, it is forced by the motor, then cut by the inner blades and gets out. Homogenizer is like stomacher. When a food is put into plastic bag with water and set in homogenizer, it is broken down.

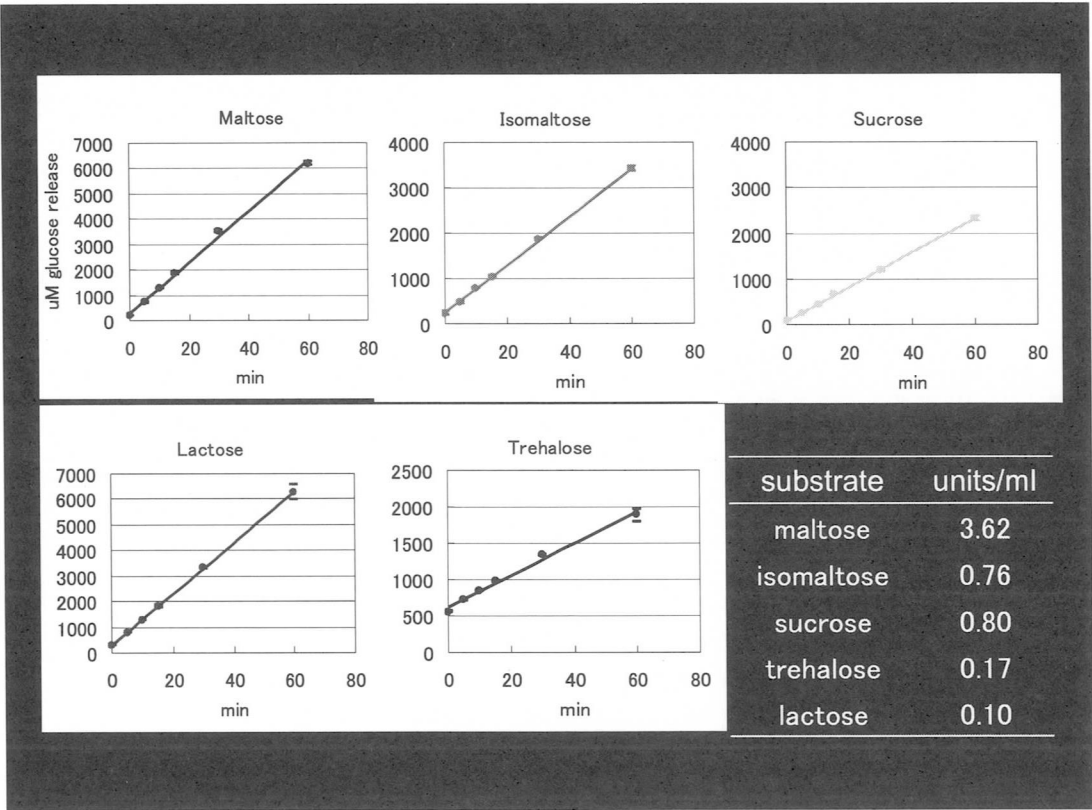


図 3 RIA の α -グルコシダーゼ活性 (RIA : Rat Intestinal Acetone powder)

Figure 3 α -Glucosidase activities of RIA (Rat Intestinal Acetone powder)

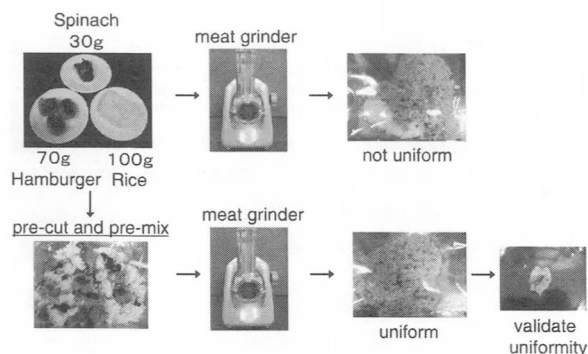


図5 「ハンバーグ定食」の物理的消化
Figure 5 Physical digestion of 'hamburger steak meal'

ナイザーの利点は野菜等の繊維質の多い食品や果物等の水分量の多い食品に対応可能であり、さらにインプットとアウトプットが常に同一であることであり、ホモジナイザーは「食品」を破碎するのに適していると結論付けた。これらを総合的に判断し、主には食事に適しているという理由から GR 法の物理的破碎装置としてミートグラインダーを選択した。

4) 物理的破碎における前処理

ミートグラインダーを用いて食事の GR を測定するために、「ハンバーグ定食」モデルを用意した。このモデルは 100g の炊飯米と 70g のハンバーグと 30g のほうれん草から構成されている (図 5)。この食事、すなわち 3 つの食品を別々にミートグラインダーにかけると、アウトプットは均一でなく GR はばらついて測定できなかった (図 5)。そこで方法論を改良検討し、様々な食事処理方法を試行した。この結果、切断混合の前処理が有効であることが判明した。ミートグラインダーにかける前に食事を切断し混合すると、簡便に常に均一な破碎物が得られた。均一性は専門的な視覚解析、炭水化物含有比、GR により確認した (図 5)。これら 3 つのパラメーターはサンプルをいずれから採取しても一定であった。従って、ミートグラインダーによる破壊の前にこの前処理を行うことにより、食品同様、食事の GR も測定できると結論付けた。

(3) GR 法とコスト

各反応を再検討により改良を施し、これらを一連の反応として行うことにより GR 法は完成した。各反応における炭水化物量や容量、さらには酵素量を検討し、至適化した。図 6 に GR の概略図を示した。GR 法が低コ

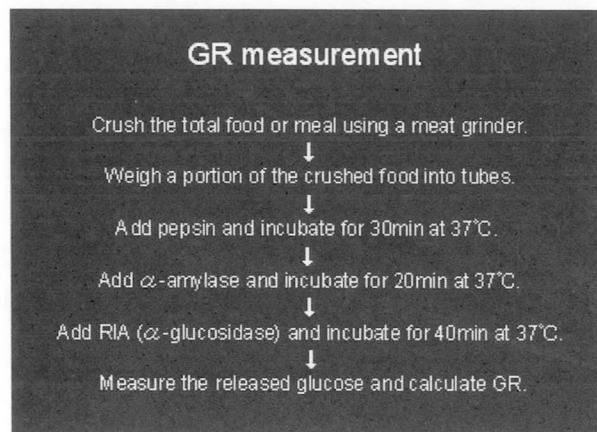


図6 GR 測定法の概略
Figure 6 Outline of GR measurement

ストであることが一見して分かる。また GR の測定は、200 ドルのミートグラインダーを購入すれば、特別な試験機器は不要で、しかも 1 サンプル 1 ドル以内と、低コストで行うことができる。

3. GR 法の測定結果

(1) 食品や食事の GR

GR 法を用いてデンプン性食品の GR を測定した (図 7)。高 GI 食、中 GI 食、低 GI 食の代表として、食パン、炊飯米、スパゲティを測定した。明らかに GI と GR の良好な相関が確認された。従って、少なくともデンプン性食品では GR 法は GI 測定の代替になりうるということが判明した。

次に、他の食品や食事の GR を測定した (図 8)。典型

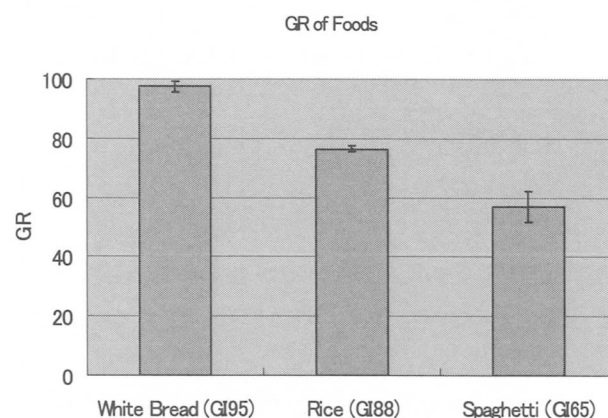


図7 デンプン性食品の GR

食品の GR は GI と関連している。

Figure 7 GR of starchy foods

GR of the foods is related with GI.

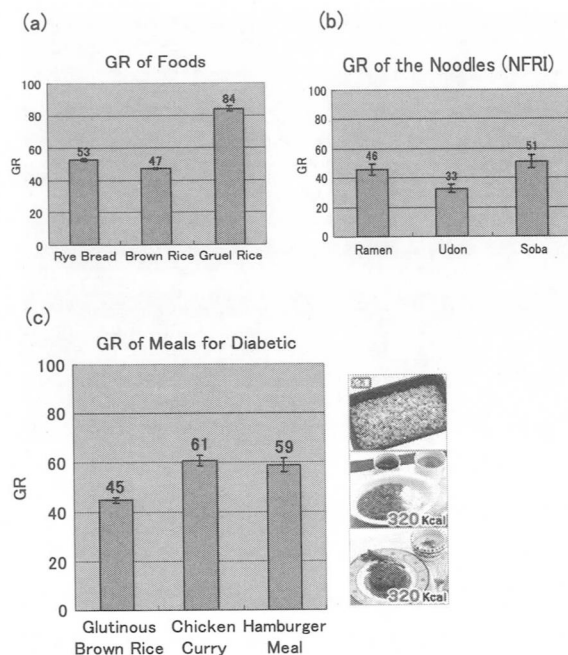


図8 食品や食事の GR

(a) 食品の GR (b) 麺類の GR (c) 糖尿病食の GR

Figure 8 GR of foods and meals

(a) GR of foods (b) GR of noodles
(c) GR of meals for diabetic

的な低 GI 食であるライ麦パン、玄米、また、かゆ食の GR を測定した。さらに、麺類として、ラーメン、うどん、そば、またもち玄米の GR を測定した。また、チキンカレーやハンバーグ定食等のセット食の GR も測定した。

さらに、食品総合研究所内にある食堂の定食の GR を測定した。2007 年 9 月 13 日の A セット定食は焼き肉定食 (図 9(a)) で、B セット定食は焼き魚と野菜の盛り合わせ (図 9(b)) で、バラエティー定食はオムライス (図 9(c)) であった。各定食にはみそ汁と漬け物が付いていた。3 つの定食を測定したところ、GR はそれぞれ 76、73、76 (図 9(d)) で、B セット定食の GR が若干低いことが判明した。

(2) GR の再現性

標準試験食を用いて GR 法の再現性を検討した。標準試験食はジャネフ社の E460F18 であり、カロリーと脂肪量を調整した病院向けのセット食である。GR 法の同時再現性は、3 試験の CV (変動係数) でそれぞれ 1.6%、0.6%、2.5% であった (図 10)。さらに、先に示した通り、ほとんどの食品や食事では CV は 5% 以内であった。GR 法の日差再現性に関しては、これら 3 試験における GR の平均値がそれぞれ 92.6、92.2、90.4 であり、3 試験の日差変動は CV1.3% であった (図 10)。これらの数

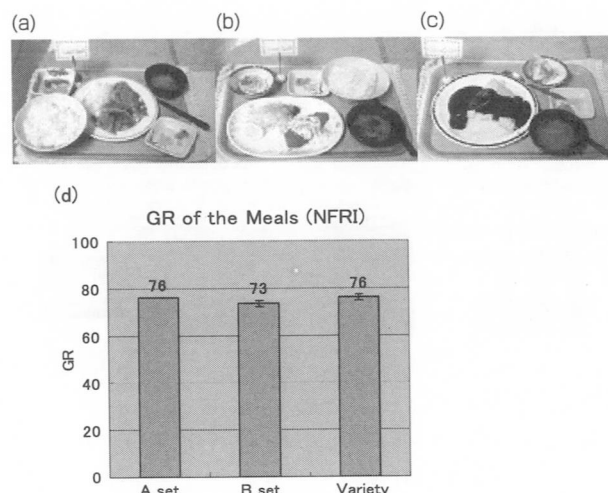


図9 食品総合研究所内食堂の定食の GR

(a) A 定食 (b) B 定食 (c) バラエティー定食 (d) 定食の GR

Figure 9 GR of the set meal at NFRI accompanying cafeteria

(a) A set meal (b) B set meal (c) Variety meal
(d) GR of the meals

GR of E460F18

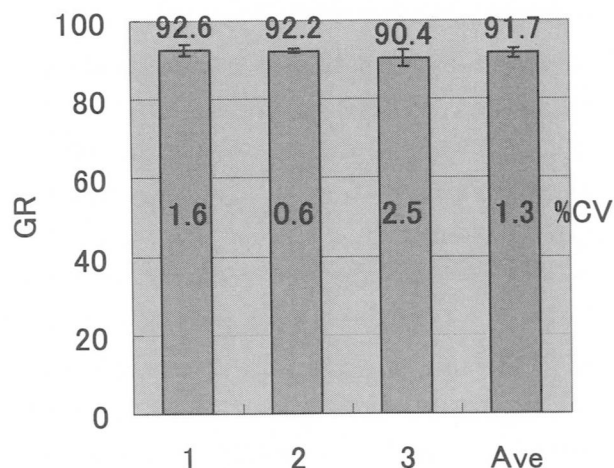


図10 GR 測定の再現性

Figure 10 Reproducibility of the GR measurement

値は液相で行われる他の生化学試験のものと同レベルである。以上から、GR 法の再現性は非常に高く、当初の目標の 1 つ「正確で再現性が高いこと」を達成した。

(3) GI と GR の相関

食品摂取後の血糖値上昇と GR の関係を調べるために、食品の GI^{11, 12)} と GR の関係を比較した。図 11 に示した通り、GI と GR には良好な相関が得られた。従って、

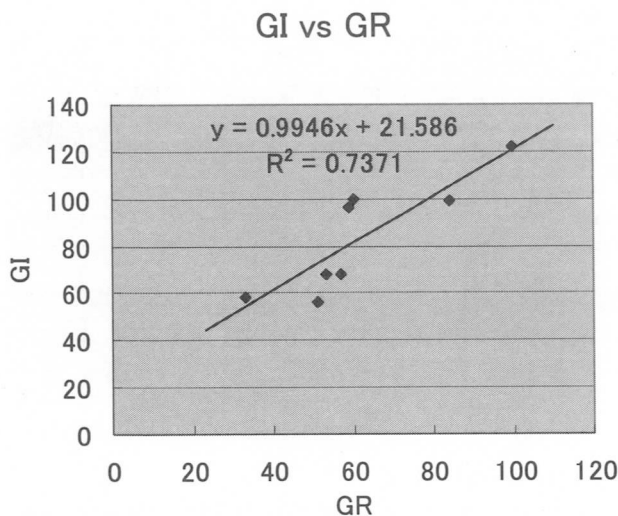


図 11 GI と GR の相関図
Figure 11 Correlation between GI and GR

GR は少なくとも GI 測定の代替法となりうるであろう。両者の間にズレもみられたが、これは測定原理の違いか、GI の不正確さに由来するものであろう。

(4) GR 法測定結果のまとめ

GR 法の特徴をまとめる。GR 法は①簡便で普通の実験室で行え、②低コストであり、食事を測定することも可能であり、④GI との相関性が良好であり、さらに⑤正確で再現性が高かった。以上から、食総研で開発した GR 法は、当初計画して「基礎調査報告書」にまとめた目標を達成したと判断した。

4. 「消化可能な炭水化物」の定義

(1) なぜ「消化可能な炭水化物」なのか

「消化可能な炭水化物」(available carbohydrate: 以下括弧は略) は GR の分母として最も有力な候補である。従って、食品中の消化可能な炭水化物含量を求めることは重要である。しかしながら、成分表等によってこの食品中含量を調べるのは事実上、不可能である。

ほとんど全ての食品の消化可能な炭水化物は炭水化物含量比として「日本食品標準成分表 2010」¹³⁾に記載されている。しかしながら、炭水化物含量は食品の製品間で変動が大きく、この変動は GR 測定の SD を上回ることがある。従って、日本食品標準成分表は、GR 法における食品の炭水化物含量としては用いることはできない。

い。

また、各食製品には「栄養成分」がパッケージに表示されている。しかしながら carbohydrate は、ある場合は食物繊維を含む「炭水化物」で表示されており、またある場合は食物繊維を含まない「糖質」で表示されている。従って、栄養成分も用いることはできない。これらより、消化可能な炭水化物の含有量は別の方法で定めなくてはならない。

さらに別の観点からみる。デンプンは消化して加水分解すると 10% の重量を増すことから、理論的にはデンプンの GR は約 110、マルトースの GR は約 105 と、100 を越すことになる。GR 法ではグルコースを 100 で最大値としているので、このような矛盾は許されない。

最後に最も重要な点であるが、非消化性のデンプンを多量に含んだ偽の低 GR 食品を健康食品の研究開発対象および市場から排除しなくてはならない。

以上の理由から、消化可能な炭水化物の定義は重要で、GR の分母は具体的に定義しなくてはならないと結論した。

(2) GR の分母

ILSI Japan や食品総合研究所では、GR の分母について議論していくつかを選択した。これより 3 つの分母が可能で、炭水化物あたりの GR、カロリーあたりの GR、重量あたりの GR を提案した (図 12)。そして、それぞれの分母に対するグルコース放出量の比は、対象食品の

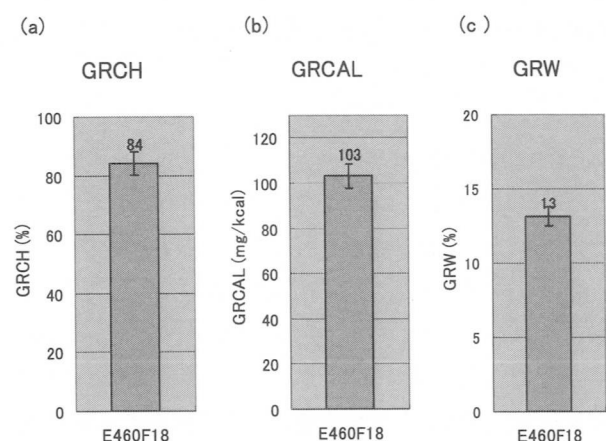


図 12 GR の分母

(a) 炭水化物 (栄養成分) あたりの GR (b) カロリー (栄養成分) あたりの GR (c) 重量あたりの GR

Figure 12 Denomination of the GR

(a) GR per carbohydrate (Nutritional Composition)
(b) GR per calorie (Nutritional Composition)
(c) GR per weight

性質として重要な意味をもつものと考えた。

重量あたりの GR は常に求めることができる。カロリーあたりの GR は栄養成分が表示されているときに求めることができる。一方、先述の通り炭水化物あたりの GR はほとんどの場合求めることはできない。しかしながら、炭水化物あたりの GR が食品や食事の性格を表す最善方法であることに疑いの余地はない。従って、炭水化物の定義を実験的かつ論理的方法で行うこととした。また、先述の通り炭水化物は消化可能な炭水化物でなくてはならない。

(3) 消化可能な炭水化物の定義

消化可能な炭水化物の測定は、①簡単な方法で、②理論に基づき、そして③全ての検体、すなわち食品や食事に対して、行わなければならない。このような条件で、文献検索を行ったところ、「non-resistant starch」という用語に行き着いた。non-resistant starch は 2002 年に McCaery らにより *J AOAC Int.* の 2 報に、実験的に定義されている。都合のいいことに、この方法は GR 法において α -アミラーゼ反応を 20 分から 16 時間に変更したものとはほとんど同じであり、non-resistant starch、すなわち 16 時間のグルコース放出の定量は、GR 法の簡単な一部変更だけで可能となった。

また、実験的にこの量は反応時間を 2 日、またはさらに延長しても変化しないことから、これはヒト小腸における食品からのグルコース放出の限界であることを意味していると考えられた。以上の結果を考慮に入れ、この 16 時間のグルコース放出を消化可能な炭水化物と定義した。

(4) GR の計算法

図 13 に基準食の GR 算出法の具体例を示す。この基準食では栄養成分が表示されており、 α -アミラーゼ反応 20 分 (Gr20m) と 16 時間 (Gr16h) における炭水化物 (食物繊維を含む) あたりのグルコース放出を求めた (図 13(a))。GR の定義は、早期に消化される炭水化物量の消化可能な炭水化物量に対する比率であるので、GR は Gr20m/Gr16h で求まる。すなわち 84/91 で、GR は 93 (図 13(c)) となる。栄養成分表示がない食品では、常に求めることができる質量あたりの GR (図 13(b)) を基に算出し、同じ GR を得ることができる。

炭水化物あたりの GR (GRCH) における Gr16h (91%)

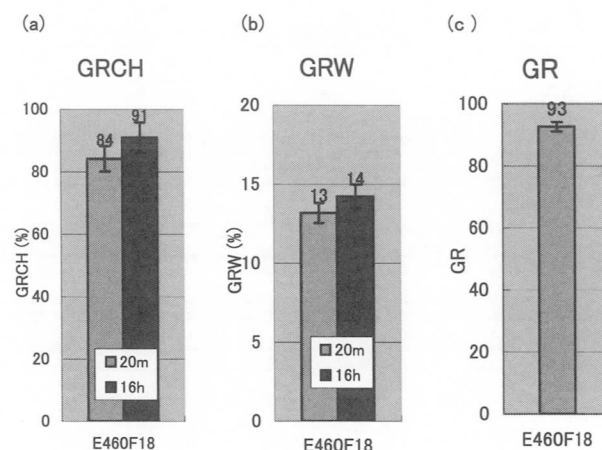


図 13 GR の計算法

(a) 炭水化物 (栄養成分) あたりの GR (b) 重量あたりの GR (c) GR

GR は Gr20m/Gr16h から求めることができる。Gr20m: 20 分反応におけるグルコース放出。Gr16h: 16 時間反応におけるグルコース放出。

Figure 13 GR calculation

(a) GR per carbohydrate (Nutritional Composition) (b) GR per weight (c) GR is derived from Gr20m/Gr16h. Gr20m: Glucose release at 20 minutes. Gr16h: Glucose release at 16 hours.

は消化可能な炭水化物であり、総炭水化物が 100% である。従って、残りの 9% が食物繊維や non-available starch である。さらに、Gr20m と Gr16h は同一容器からサンプリングしてから求めるので、ピペッティング誤差等が相殺され CV は小さくなった。

以上をまとめると、消化可能な炭水化物は実験的、理論的に定義され、しかも簡便な方法で、全てのサンプルに対応可能であった。さらに、より正確な測定が可能となり、加水分解時の質量増加の問題も解決し、偽の低 GR 食品の除外も達成できた。

5. GR の将来展望

(1) GR は食品固有の特性か

1) GR の特徴

GR 法は *in vitro* の試験法であり、*in vivo* の試験ではない。従って、GR は物理的因子として形状の変換、化学的因子として酵素的変換を反映するが、生理学的因子として腸管膜と血管膜におけるグルコースの取り込みや胃や腸におけるホルモンの影響を反映しない。生理学的因子は生体間や生体の状況により大きく変化する。生理

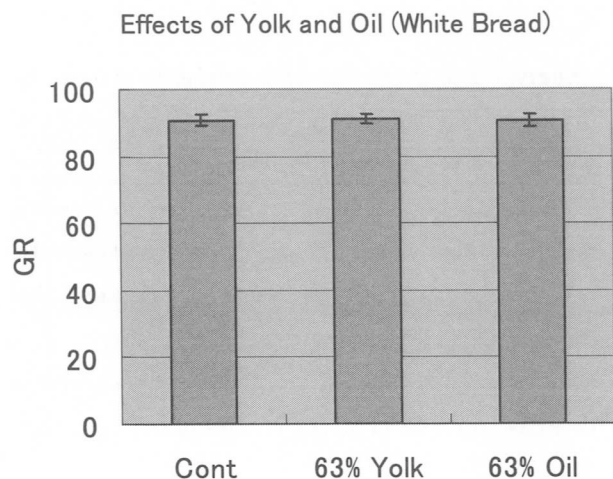


図 14 卵黄またはサラダ油存在下における食パンの GR
GR63%の卵黄またはサラダ油を加えても GR は変わらない。
Figure 14 GR of white bread in the presence
of yolk or salad oil
GRs are not affected by adding 63% of yolk or oil.

学的因子を反映しないことが最も大きな GR 法の特徴であり、GR は食品固有の特性であるかも知れない。

2) GR 法の頑強性

食品や食事は予期できない食成分を含む混合物であるので、GR 法の頑強性を検討した。実験により、以下の結論を得た。GR 法は pH6 から 8 の間で安定であり、塩による影響は小さく、大量の脂肪やタンパク質等の非デンプン性食品によっても影響を受けない。図 14 に技術的に最大限である 63% の卵黄あるいはサラダオイルを添加した食パンの GR を示す。卵黄あるいはサラダオイル添加の影響は全くみられなかった。従って、GR はお

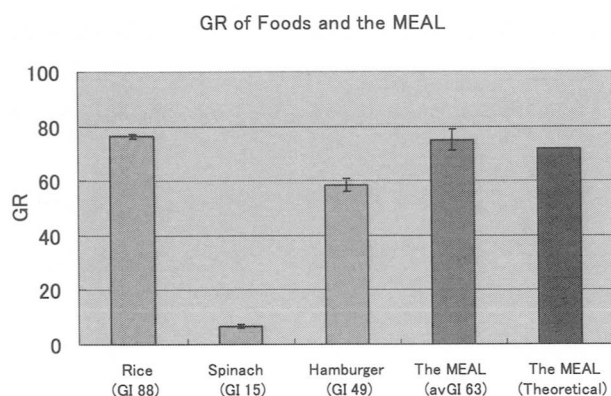


図 15 「ハンバーグ定食」の GR
ハンバーグ定食の実測 GR は、構成する 3 食品から求めた理論 GR は非常に近似している。
Figure 15 GR of the 'hamburger meal'
Measured GR of the Meal is quite similar to
theoretically GR delivered from composed foods.

そらく食品固有の特性であろう。GR は食品同士の影響を受けないと考えられるからである。

3) 他の食品の GR への影響

GR が本当に食品の固有の特性であるなら、複数の食品において GR を足し合わせたり、平均値を求めたりすることができる。先の「ハンバーグ定食」を用いて、この混成食品の GR に関する検討を行った (図 15)。水色の棒グラフは各食品、すなわち炊飯米、ハンバーグ、ほうれん草の GR を示す。オレンジ色の棒は食事の測定 GR を示す。赤の棒はこの食事の理論的 GR で、これら 3 種の食品の GR を炭水化物量で加重平均した求めた値である。ハンバーグ定食の測定 GR は理論的 GR に非常に近い。このため、食事の GR は構成する食品の GR から求めることができると思われる。従って、GR は食品の固有の特性であると考えられる。

4) Glucose Releasing Load (GRL)

同様に、GR が食品の固有の特性であるとする、Gr20m すなわち GR の分子を足し合わせることができ、Gr20m の総和が Glucose Releasing Load (GRL) になる。GRL は早期に小腸で消化され、体内でグルコースに変換される炭水化物の総量である。

(2) GR の将来展望

GR は食品に固有の特性であり、複数の食品や食事において、炭水化物量により加重平均された GR や GRL を求めることができる。従って、測定しなくても構成食品の GR がわかっているならば、多数の定食等の複合食品の GR を簡単に算出することができる。さらに、大盛りや食べ残し等、割合がどのように変化しても食事の GR も求めることができ、非常に実用的になる。

食品や食事の GRL、すなわち早期に消化される炭水化物量は血中へのグルコース供給の良好な指標になり、実際に血中グルコースとなる。従って、GR は食品中炭水化物の質だけでなく量に関わる情報を提供するであろう。GI に関して最も深く関わり、また普及推進を行っているブランド・ミラー教授も Glycemic Load (GL) はあまり重要でないことを認めている¹⁵⁾。これはおそらく GI は食品間の相互作用があるため、足し合わせることができないからであろう。一方、GR は足し合わせが可能であるため、ヒトの健康にとって重要な指標を提供することができる。これらの考察を含め、GR の概念や測定法が世界に広がったとき、GR と疾患予防に関する研

究が行われ、この関係が明らかになって行くであろう。GR は健康食品や機能性食品の開発の際の有力な手段となり、また食品表示により消費者に伝える有用な情報となるであろう。このように、GR は世界中の健康に貢献していくものと期待される。

6. 謝辞

筆者はこのように名誉ある会議での発表機会を与えてくれた、ILSI Japan 理事長の木村修一教授に対し、この上ない感謝の意を表します。また、科学のおよび精神的助言を与えてくれた、当時食品総合研究所（現宮城大学）の津志田藤二郎教授に感謝いたします。重要な助言を与えてくれた石巻専修大学学長の坂田隆教授に感謝いたします。そして、助言と激励を与えてくれた ILSI Japan 炭水化物部会 GR プロジェクトのメンバーに感謝いたします。

また、筆者は共同研究者である食品総合研究所の方々にも感謝いたします。徳安健博士からは全般、與座宏一博士からは食品成分、松木順子氏からは α -グルコシダーゼ、大江洋正博士からはホモゲナイザー、佐々木朋子博士からはミートグラインダーと食品テクスチャーについて、助言と技術情報を与えていただきました。

さらに、熱心に聴講していただいた、ここ東京大学弥生講堂一条ホールの聴衆の皆様にも深く感謝いたします。

<参考文献>

- 1) Cummings JH *et al.* A new look at dietary carbohydrates: chemistry, physiology and health. *Eur J Clin Nutr* 1997 51:417
- 2) ILSI Japan 糖質研究部会・簡易評価法研究会 食品の血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発に関する基礎調査報告書 2005
- 3) Granfeldt Y *et al.* An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *Eur J Clin Nutr* 1992 46:649
- 4) Sayago-Ayerdi SG *et al.* In vitro starch digestibility and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans, and tortilla-bean mixture: effect of cold storage. *J Agric Food Chem* 2005 53:1281
- 5) Englyst KN *et al.* Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *Am J Clin Nutr* 1999 69:448
- 6) Araya H *et al.* A comparison between an in vitro method to determine carbohydrate digestion rate and the glycemic response in young men. *Eur J Clin Nutr* 2002 56:735
- 7) Brand-Miller J and S Holt. Testing the glycaemic index of foods: *in vivo*, not *in vitro*. *Eur J Clin Nutr* 2004 58:700
- 8) Oki Tomoyuki *et al.* Inhibitory effect of α -glucosidase inhibitors varies according to its origin. *J Agric Food Chem* 1999 47:550
- 9) Nishuoka T *et al.* Baicalen, an α -glucosidase inhibitor from *Scutellaria baicalensis*. *J Nat Prod* 1998 61:1413
- 10) Hoebler C *et al.* Particle size of solid food after human mastication and in vitro simulation of oral breakdown. *Int J Food Sci Nutr* 2000 51:353
- 11) Sugiyama M *et al.* Glycemic index of single and mixed meal foods among common Japanese foods with white rice as a reference food. *Eur J Clin Nutr* 2003 57:743
- 12) Sugiyama M *et al.* ごはん食と Glycemic Index に関する研究. 日本健康・栄養システム学会誌 2003 3:1
- 13) 日本食品成分表 2010 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会 2010
- 14) McCleary B V *et al.* *J AOAC International* 2002 85:66
- 15) McCleary B V *et al.* *J AOAC International* 2002 85:1103
- 16) Brand-Miller J 第 5 回日本 Glycemic Index 研究会 2006

■炭水化物研究部会

GR 法の実用化に向けて

中西 由季子*

世界の糖尿病有病率は、1980 年は男性の 8.3%、女性の 7.5%であったが、2008 年には男性の 9.8%、女性の 9.2%まで上昇した。世界の糖尿病の有病者数は、1980 年の時点で 1 億 5,300 万人であったが、2008 年に 3 億 4,700 万人に達し、30 年でおおよそ 2 倍以上に増えたことが報告された¹⁾ (図 1)。また、2007 年の国民健康・栄養調査によると日本人の糖尿病が強く疑われる人は、約 890 万人、糖尿病の可能性が否定できない人は、1,320 万人と報告されており、10 年で約 1.3 倍に増加している (図 2)。

生活習慣病予防の観点から、食後の血糖値上昇のコントロールが重要であり、広範な食材による血糖値上昇への影響を比較するため、食品開発の現場で容易に活用できる簡便な新評価法の確立が求められている。ILSI Japan 炭水化物研究部会は、独立行政法人食品総合研究所と共同で生体内の消化反応過程である口腔内反応 (咀嚼)、胃内反応、十二指腸内反応、小腸内反応を *in vitro* の 3 ステップ反応系に模した測定精度の高い GR 法のプ

ロトタイプを開発した。

GR 法の実用化に向けて、試験設備が必ずしも充分でない施設や、分析試験経験の少ない者でも正しい測定値が得られる方法であり、国際的にも通用する方法を目指している。

次なる課題として、同一検体においても測定実施者や実施施設、記録機種が異なると測定値が異なる可能性が考えられた。さらに、GR 法の操作手順について、簡便性の更なる向上にむけた課題点のスクリーニングも必要であると考えられた。そこで、多施設共同 GR 法評価試験を行い、GR 法について、同一施設内および施設間の測定の再現性を調べ、GR 法の操作手順の改正を試みている。

現在までに、2 回の多施設共同 GR 法評価試験を行った。第一回の評価試験では、11 機関 (9 社、2 大学) において、同一の施設で調製された試薬を用いて、それぞれ GR 法の操作手順書に従って測定し、その結果を解析した。検体は、標準食として市販されている固体の複合

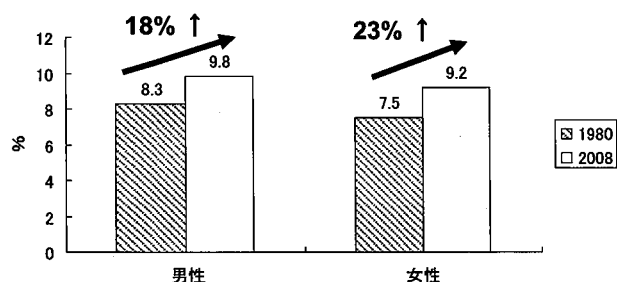


図 1 世界における糖尿病罹患率は、急速に増加している
Figure 1 Diabetes on upswing world wide

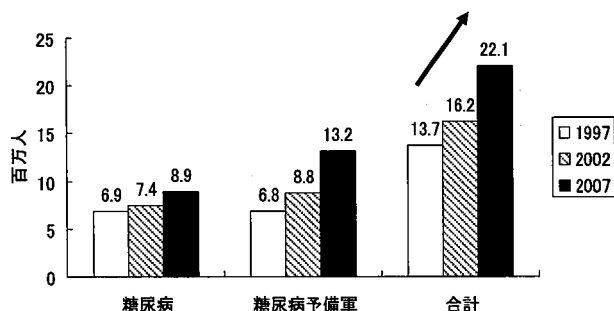


図 2 日本における糖尿病予備軍および糖尿病患者数の変化
Figure 2 Diabetes affects 22.1 million people of all ages in Japan

*甲子園大学 栄養学部 フードデザイン学科

栄養食、流動食として、市販の液体栄養食品、コントロールとして、マルトース溶液の3種類とした。マルトース溶液、液体栄養食品のGR値は、同一施設内および施設間のGR値の変動係数(CV)は、10%以内であった。溶液中の多段階酵素反応における糖質の消化性評価は、十分な精度を持って評価できることが示された。しかしながら、固体の複合栄養食のGR値のCVは、10%以内に収まっているが、液体試料よりも大きかった(表1)。以上の結果から、残された課題を解決することにより精度の高い手法となることが期待された。

GR法の測定操作手順を再度検討したところ、サンプリング法および防腐剤の改定および測定手順の詳細なマニュアル作成が課題として見出された。

上記の課題を考慮し、測定操作手順書を改定後に実施した第二回の評価試験では、検体は、標準食とコン

トロールの2種類とした。10機関(7社、3大学)において測定されたが、第一回の評価試験に比べ、GR値のCVが大きい結果となった(表2)。現在、酵素溶液の保存・回答条件の違いによる酵素活性への影響の検討、防腐剤の再検討などを行っている。

<謝辞>

本研究を実施するにあたり、東北大学名誉教授・昭和女子大学名誉教授 木村修一先生、石巻専修大学学長 坂田隆先生、二葉栄養専門学校教授 足立堯先生、株式会社明治 佐々木一博士、熊井英志氏をはじめ、ILSI Japan 炭水化物研究部会 GR プロジェクトメンバー各位のご助言、ご協力を賜りました。心より、御礼申し上げます。

<参考文献>

- 1) Goodarz Danaei *et al.*, Lancet, 378 (9785), 31-40, 20

表1 46 サンプルを測定したグルコース濃度とGR値の結果

Table 1 Glucose concentrations and GR values from 46 samples

	標準食 20分	標準食 終夜	液体食 20分	液体食 終夜	マル トース 20分	マル トース 終夜	標準食 GR	液体食 GR	マル トース GR
平均	16.4	20.2	22.7	24.1	26.5	26.7	80.7	95.1	99.5
標準 偏差	3.4	3.6	4.0	4.1	4.8	4.7	7.1	5.1	6.1
食数	46	46	46	46	46	46	46	46	46
最小値	7.4	10.1	11.2	11.9	13.1	13.2	65.1	82.6	88.8
最大値	26.1	29.3	30.5	33	36.2	35.8	98.5	115.3	125.4
変動 係数	20.9	17.9	17.5	17.0	18.0	17.6	8.8	5.4	6.1

表2 40 サンプルを測定したグルコース濃度とGR値の結果

Table 2 Glucose concentrations and GR values from 40 samples

	標準食 20分	標準食 終夜	マル トース 20分	マル トース 終夜	標準食 GR	マルトース GR	補正後 標準食 GR
平均	13.2	19.3	26.1	25.9	68.4	100.8	68.0
標準偏差	3.5	3.7	4.7	4.4	10.8	6.2	10.7
食数	40	40	40	40	40	40	40
最小値	5.3	8.2	11.7	12.3	45.0	91.8	43.1
最大値	22.3	24.9	34.1	33.2	90.3	117.0	83.9
変動係数	26.3	19.3	18.0	17.0	15.8	6.1	15.7

■食品機能性研究会

栄養素および食品成分の脳機能に対する効果の評価法 —行動薬理学的手法の有用性—

武田 弘志*、辻 稔*

1. はじめに

栄養は脳が機能するためのエネルギー源であり、脳の構成成分や生理活性物質の素材としても重要な役割を果たしている。例えば、脳が正常に機能するためには、ブドウ糖が酸素とともに絶え間なく供給される必要がある。脳の発達にはタンパク質が重要であり、発達期におけるタンパク質不足は、脳の発育不全につながる。また、チロシンやトリプトファンは脳内モノアミンの前駆体であり、γ-アミノ酪酸をはじめとする数種のアミノ酸は自身が神経伝達物質として脳機能に寄与している。さらに、脳神経細胞の主要な膜成分は脂質・脂肪酸類であるため、この栄養素に着目した脳研究は比較的多い。ビタミンやミネラルも脳内物質の合成・分解系、神経伝達物質の放出制御、細胞内情報伝達系など多様な場で脳機能の調節に関わっており、これら微量栄養素の欠乏が脳機能障害のリスクファクターとなることも示唆されている。加えて、食品に含まれる栄養素以外の成分も、脳機能に影響を与えることが報告されている。したがって、脳が司る中枢神経系機能のメカニズムや、これらの機能障害に起因する各種疾患の病態生理を考究する上で、栄養学的あるいは食品学的側面からのアプローチは重要である。

行動はヒトを含めた動物が示す多種多様な動きの総称であり、脳内で生じる機能変化は多かれ少なかれ行動変化というかたちで表出される。すなわち、実験動物の行動は脳機能の1つの反映であり、これらを観察することにより、情動や認知のような高次脳機能を評価することができる。近年の分子生物学的ならびに遺伝子工学的な研究手法の発展は目覚ましく、各種栄養

素あるいは食品成分の機能性の評価にも幅広く用いられている。しかし、細胞あるいは組織レベルで生理活性を見出せたとしても、このことと実際の高次脳機能における生理学的意義との間には大きな隔りがある。したがって、ミクロな視点での機能解析が進めば進むほど、最終的にはマクロな視点での行動学的検証の必要性が増してくる。行動薬理学は、実験心理学的な手法を用いて動物の行動に対する化合物の効果を調べる学問であり、現在では、高次脳機能の変化を多角的に検出するための各種評価法が確立されている。また、これら評価法を用いて化合物の薬効を評価することが、時には疾患の病態解明の一助となることもある。本稿では、脳機能に対する栄養素あるいは食品成分の効能の評価に有用と考えられる、マウスやラットなどの小動物（以下では動物と総称する）を用いた各種の行動薬理学的评价法の理論や特徴について概説する。

2. 一般行動の評価法

情動や認知のような特定の脳高次機能を行動薬理学的側面から考究する上では、指標とする行動に影響を及ぼす様々な要因（これを「混交要因」と呼ぶ）に留意する必要がある。例えば、後の項で紹介する抗うつ効果のスクリーニング法の1つである強制水泳試験では、動物に強制的に水泳を負荷することで生じる行動抑制を抑うつ症状の指標として評価するが、この場合、用いる動物の運動活性や水泳能力などが混交要因となる。すなわち、動物に中枢機能抑制による運動活性の低下や、四肢の運動機能障害による水泳能力の低下が生じていた場合、た

*国際医療福祉大学 薬学部 薬理学分野

とえ行動抑制が認められてもそれが情動変化に起因するものであると断言はできない。また、学習記憶機能の行動評価では、音刺激や痛み刺激を動物に認知させる方法を用いることがあるが、学習記憶行動の低下が認められた動物で聴覚や疼痛閾値の異常が判明した場合、学習記憶障害の可能性は根底から見直す必要がある。したがって、ほとんどの行動薬理学的研究で共通の混交要因となる一般行動（動物が元来有する行動特性や感覚・運動機能に基づく行動など）を評価することは、得られた実験データを正確に解釈するために必要不可欠である。以下の項では、代表的な一般行動の評価法の種類と概要について紹介する。

(1) オープンフィールド試験

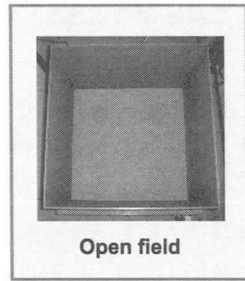
動物が制約を受けることなく自由に行動できる空間をオープンフィールドと呼ぶ。本試験では、動物を1匹のみオープンフィールド内に置き、その直後より動物が示す種々の症状を経時的に観察する。通常は、動物に人工的な刺激を与えることなく、あらかじめ決めておいた観察項目の発現の有無、程度および頻度を一定間隔（3～5分間程度）ごとに評点（スコア化）する。図1では、簡便な行動観察記録表の一例を示す。本表は、自律症状（流涙、流涎、眼瞼下垂、呼吸、排尿、脱糞、下痢）、反射機能（正向反射、痛み反射、音反射）、運動性（自発運動、立ち上がり、よろめき歩行）、痙攣（強直性、間代性）、その他の生理機能（体重、体温、

立毛）などの項目について、発現の有無や強度をスコア化（促進は1あるいは2、正常は0、抑制は-1あるいは-2）するものである。これらの項目について症状観察を行うことにより、動物の健康状態や、投与薬物の薬効を幅広く検証することが可能である。なお、オープンフィールド試験は、非常に安価でかつシンプルな実験装置（極論を言えばタライ1つあれば十分である）で行える方法であるが、評価結果には主観的要因が多く含まれることから、実験者は評価のための手技・手法を十分に習熟し、常に一定の基準で判断することが重要である。

(2) ホールボード試験

ホールボード試験は、オープンフィールド試験の応用型ともいえる評価法である。試験装置としては床面に数箇所（通常4～16か所）穴を設けたオープンフィールドを用い、本装置内で動物が示す様々な探索行動を測定する。近年著者らは、これら探索行動を客観的かつ定量的に評価するための簡易システムとして、自動ホールボード試験装置を開発した^{1, 2)}（図2および3）。本試験装置は、床面の中央から等距離に4か所穴を設けたオープンフィールド内での動物の探索行動を、独自で開発したカラービデオ・トラッキング・システムとデータ解析用のソフトウェアにて自動解析するものである。新奇環境下である装置内で動物が示す探索行動を、情動性の指標として評価する。これまでに、

(A)



Open field

(B)

Animal:	Sex:	Body weight:	Drug:	Dose:	Injection root:
Observations					
Autonomic					
Lacrimation					
Salivation					
Palpebral closure					
Respiration					
Urination					
Defecation					
Diarrhea					
Reflex					
Righting reflex					
Pain withdrawal reflex					
Acoustic reflex					
Activity					
Locomotor activity					
Rearing					
Staggering gait					
Convulsion					
Tonic convulsion					
Clonic convulsion					
Physiological Measures					
Body weight					
Body temperature					
Piloerection					

Score: Increase +1, +2; Decrease -1, -2; No change 0

図1 オープンフィールド試験で使用する装置 (A) と記録表の一例 (B)

Figure 1 The apparatus and an example of the record table used in the open field test

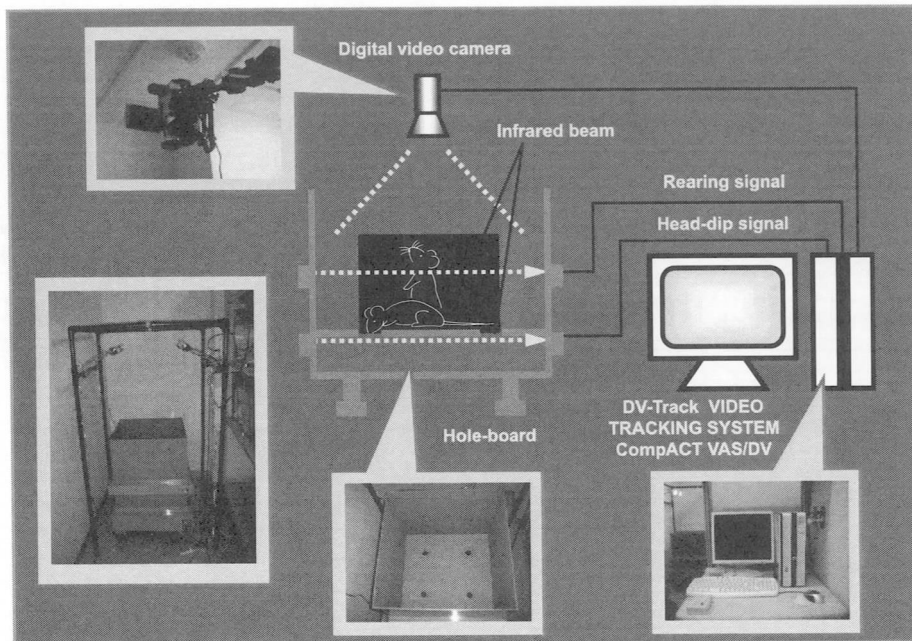


図2 自動ホールボード試験装置の概略図

Figure 2 The schematic view of the automatic hole-board test apparatus

著者らは、ホールボード試験におけるマウスの探索行動のうち特に穴のぞき行動が、抗不安効果を有するベンゾジアゼピン受容体作動薬の投与により増加することや、不安惹起作用を有するベンゾジアゼピン受容体逆性作動薬の投与および単回拘束ストレス刺激の負荷により減少することを見出している¹⁾。したがって、ホールボード試験における穴のぞき行動は、動物の情動性の変化を検出する上で有用な指標となることが考えられる。

(3) 自発運動活性測定試験

自発運動とは、外部刺激等で強制的に誘発される運動ではなく、文字通り実験動物が自発的に示す運動のことである。一般に自発運動活性は、移所運動や回転かごでの車回し運動を指標にして測定するが、本稿ではより汎用性が高い移所運動活性の測定法について紹介する。

最も古典的な方法は、床を線で分けした円形あるいは四角形のオープンフィールドを用いるものである（例えば、縦横 50cm のオープンフィールドの床に線を引き、25 区画（1 区画あたり縦横 10cm）に分ける）。このオープンフィールド内に動物を入れ、実験者は動物が床に記してある線を跨ぐ回数、あるいは各区画に入る回数を測定する。一般には、一定の短い時間内（5 分間程度）に

おける回数を経時的に連続測定し、その増減を移所運動活性の変化の指標とする。また、現在では、実験結果の定量性や客観性を高めるために、移所運動活性を自動的に測定できる装置を使用することが多い³⁾（図 4）。通常は動物を測定環境下にしばらく放置して、新奇環境に順化させた後の移所運動活性を、自発運動活性の指標として測定する。また、同様に新奇環境という要因を排除するために、普段飼育されているホームケージ内での移所運動活性を測定することもある。特に、マウスの自発運動活性は、試験薬物の中樞興奮作用の有無を予測するための有用な指標である。さらには、自動測定装置を用いて飼育環境における移所運動活性を昼夜連続して経日的に測定することにより、サーカディアンリズムを評価することも可能である。

(4) ロータロッド試験および尾懸垂試験

薬物の投与や遺伝子改変により、動物の運動機能に変化が生じることは珍しくない。著しい運動失調は肉眼による行動観察で把握できるが、見た目での判定が不可能な微妙な変化については、何らかの実験的指標を用いて定量的に評価する必要がある。その代表的な試験法としてロータロッド試験が挙げられる（図 5）。本試験は、一定のスピードで回転する丸棒の上に動物を乗せ強制的に歩行させるものであり、通常は少しの訓練を行うこと

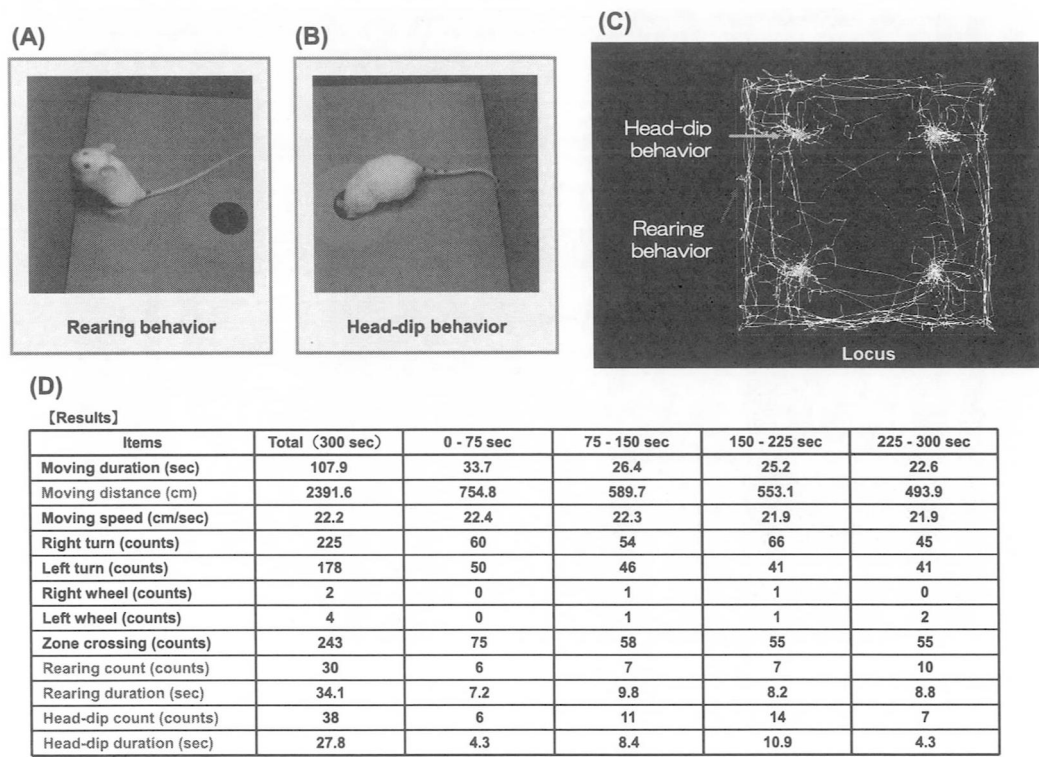


図3 自動ホールボード試験においてマウスが示す立ち上がり行動 (A) および穴のぞき行動 (B) と、得られる軌跡図 (C) およびデータ (D) の一例

Figure 3 The rearing (A) and head-dip (B) behavior of mouse, the locus chart (C) and an example of the data (D) in the automatic hole-board test

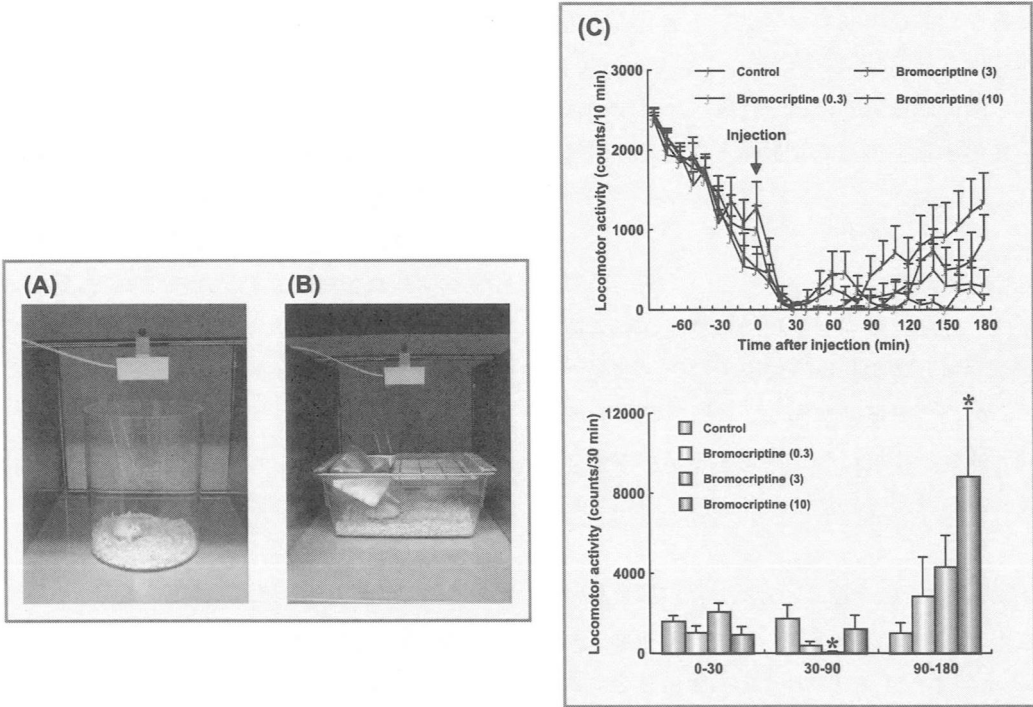


図4 自発運動活性測定試験の風景 (A および B) とドパミン受容体作動薬 (プロモクリプチン) により誘発される自発運動活性促進効果 (C)

Figure 4 The experiment scenery of the measurement of locomotor activity (A and B) and the dopamine receptor agonist (bromocriptine)-induced increase in locomotor activity in mice (C)

で動物は丸棒の回転に同調して落ちることなく歩行する。しかし、平衡感覚や協調運動の障害、あるいは骨格筋の弛緩が生じている場合は丸棒の上をうまく歩行できずに落下してしまうため、これを運動機能の低下として評価する。また、本法における丸棒上での歩行運動は訓練を重ねることにより上達することから、この現象を利用して運動学習の評価を行うこともある⁴⁾。

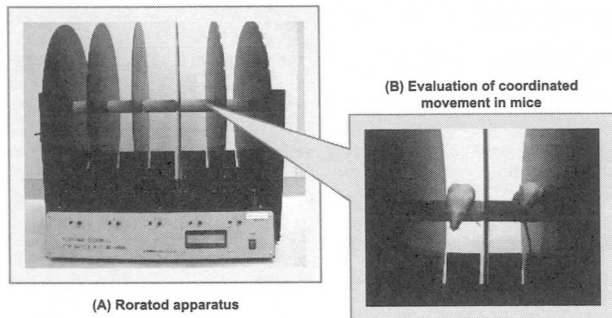


図5 ロータロッド試験装置 (A) と実験風景 (B)
Figure 5 The apparatus and experiment scenery of the rotarod test

さらに、ロータロッド試験に加えて、マウスの運動機能を評価するより簡便な方法として懸垂試験が挙げられる。本試験では、床から 20cm 程度の高さでマウスを飼育ケージの網状のふたに乗せ、その後裏返しにした時にマウスが網にしがみつく行動を運動機能の指標とする。ふたを裏返しにした後にマウスが網にしがみついている時間を測定し、その短縮を運動機能の低下と評価する。本試験は、特に骨格筋弛緩の有無の検討に適している評価法である。

3. 不安関連行動の評価法

心理学上、精神身体反応を引き起こす原因となる明確な対象が存在する場合を恐怖、存在しない場合を不安と定義されるが、いずれも不快刺激に対する生体の情動応答であることに違いはない。現在、動物を用いた不安関連行動の評価法としては、動物が元来保有している生得的な情動反応を利用する方法（高架式十字迷路試験や明暗試験など）と、実験的ストレス刺激を負荷して条件付けを行うことにより人為的に誘発させた情動反応を利用する方法（恐怖条件付けストレス試験など）が開発されている。これらの評価法は、抗不安薬の薬効をスクリー

ニングするための前臨床試験法として考案されたものであるが、現在ではその域を超えて、各種遺伝子改変動物の情動機能の解析や、薬物のみならず栄養素や食品成分の不安あるいは抗不安効果の検出にも役立っている。以下の項では、代表的な不安関連行動の評価法の概要について紹介する。

(1) 高架式十字迷路試験

高架式十字迷路試験は、動物が本質的に有する好奇心に基づいた接近行動と、不安や恐怖が動因となる回避行動を利用した、接近一回避型のコンフリクトモデルである⁵⁾。実験装置としては、床から高位置に壁のない通路（オープンアーム）と壁のない通路（クローズドアーム）を十字型に交叉させたものを用いる（図6）。本試験は、主にオープンおよびクローズドアームへの侵入回数および両アームでの滞在時間を測定することにより、動物の不安レベルを評価する。すなわち、壁がなく開放的な環境のオープンアームがより不安を感じる区域と考えられ、一般に健常な動物は、オープンアームへの侵入回数が少なく滞在時間も短い。一方、抗不安薬などの不安を軽減させる物質を投与された動物は、オープンアームへの侵入回数が多くなり滞在時間も長くなる。

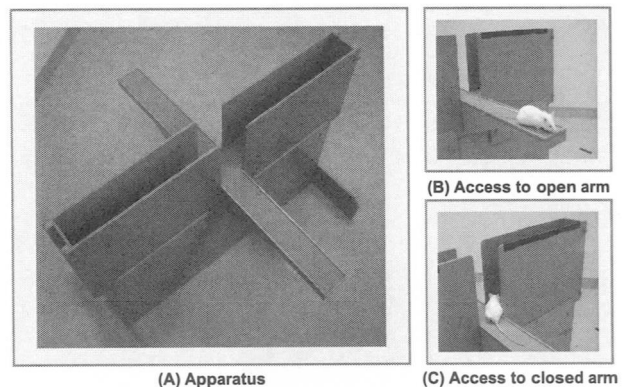


図6 高架式十字迷路試験装置 (A) と実験風景 (B および C)
Figure 6 The apparatus and experiment scenery of the elevated plus maze test

(2) 明暗試験

実験装置としては、明るい部屋（明区画）と暗い部屋（暗区画）の2区画で構成されるボックスを使用する（図7）。通常は実験装置内を自由に探索させた動物が両区画に滞在する時間をそれぞれ測定し、その割合を指標として不安レベルを評価する。動物は生得的に暗い場所を好

み明るい場所を嫌う習性を有するため、健常な動物は明区画よりも暗区画に長時間滞在する。一方、抗不安薬などの投与により不安レベルを低下させた動物では、明区画での滞在時間の延長が認められる⁶⁾。

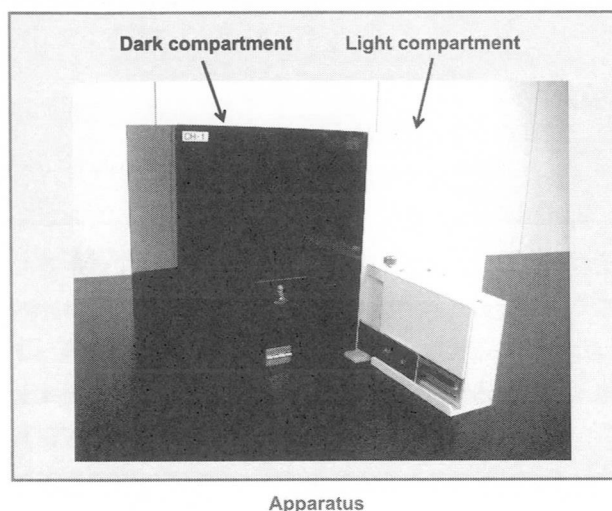


図7 明暗試験装置
Figure 7 The apparatus of the light-dark test

(3) 恐怖条件付けストレス試験

ヒトは一度恐怖を体験するとその時の状況を学習・記憶し、後に類似した状況に置かれた時に経験した恐怖に基づいた情動的ストレス反応（不安や抑うつ）を呈する。同様の現象は動物でも認められ、ある環境で恐怖刺激を与えられた動物は、再度同じ環境に暴露された場合、恐怖刺激自体は存在しなくても以前の記憶

に基づいた情動行動を示す。恐怖条件付けストレス試験は、このような恐怖記憶に基づいて発現する情動行動を利用した不安の評価法である。実験装置には床面に電撃刺激負荷用のグリッドを装備した電撃ボックスを用い、試験はコンディショニングとテストの2セッションで構成される（図8）。コンディショニングセッションでは動物を電撃ボックス内に入れ、一定の条件で回避不可能な電撃刺激を負荷して条件付けを行う。その後（通常は24～48時間後）のテストセッションでは再度同じ電撃ボックス内に動物を入れ、電撃刺激を与えない状態でマウスが示すすくみ行動（呼吸運動以外の体動を示さない無動状態のまま身体をすくませる行動）の出現時間を測定する。すくみ行動は、現在臨床使用されている抗不安薬の投与で抑制されることから、不安状態を反映する情動行動の1つと考えられている⁷⁾。

4. 抑うつ関連行動の評価法

抑うつ症状とは気分の落ち込みを意味する用語であり、日常生活で多くの人を経験するありふれた感情である。しかし、この感情が病的なものとなると、適応障害やうつ病などの情動障害の発症につながる。抑うつ症状の発症メカニズムは未だ不明な点が多いが、主要な誘因の1つとして多様なストレス環境が考えられる。したがって、動物に抑うつ症状を生じさせる手段として、種々のスト

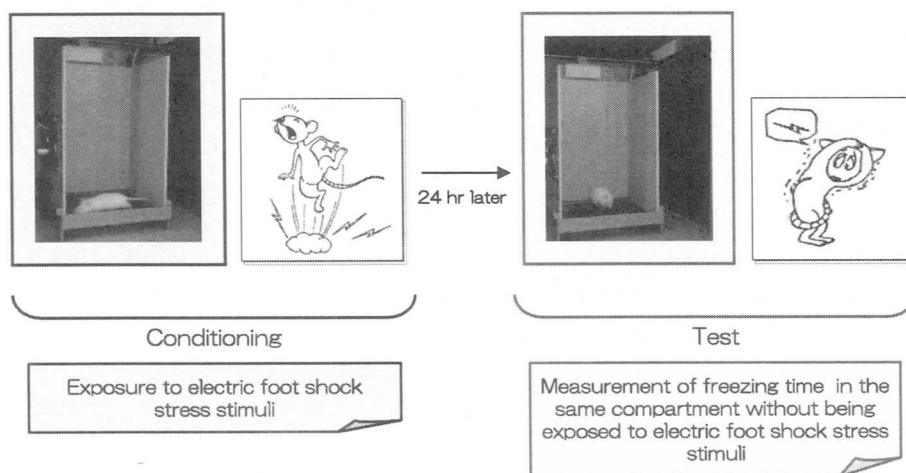


図8 恐怖条件付けストレス試験の実験風景と実験スケジュールの1例
Figure 8 The experiment scenery and an example of the experimental schedule of the conditioned fear stress test

レス刺激を負荷する試みがなされている。また、これら抑うつ症状を生じさせた動物は、新規抗うつ薬候補物質の前臨床評価や、各種栄養素ならびに食品成分の抗うつ効果の検出に応用されている。以下の項では、ストレス刺激の負荷や他の実験的処置により、抑うつ症状に類似した行動変化を動物に引き起こすことが期待できる研究方法（強制水泳試験、尾懸垂試験、学習性無力試験）について概説する。

(1) 強制水泳試験

実験には、動物が逃避することができない水槽を用いる。水槽内において動物に強制水泳を負荷すると、逃避行動の後に無動行動（水面上に頭だけを出し、手足などを動かすことなく浮いている状態）が認められる。その24時間後（あるいはそれ以上経過した後）に再度水槽内に動物をいれると、1回目の実験時よりも早期に無動行動が発現するため、この無動行動の持続時間を抑うつ様行動として評価する⁸⁾（図9）。臨床上有効性が認められている既存の抗うつ薬が、本試験で誘発される無動行動を特異的かつ有意に抑制するため、各種試験物質の抗うつ効果の検出に有用と考えられている。また、本法は、試験操作が極めて簡便なこともあり、現在、最も繁用されている抑うつ評価法の1つである。無動行動は動物が水槽中からの逃避を放棄した絶望状態を意味すると解釈されているが、その発現メカニズムについては未だ不明な点が多い。また、無動行動の発現時間は水槽内の水温に依存して変化することが知られていることから、試験を通じて水温は一定に保つ必要がある。なお、中枢興奮

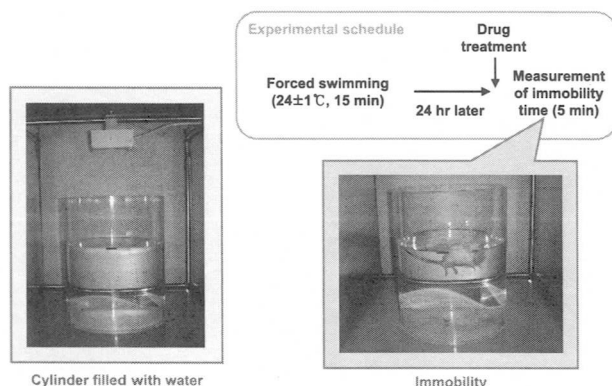


図9 強制水泳試験の実験風景と実験スケジュールの1例
Figure 9 The experiment scenery and an example of the experimental schedule of the forced swimming test

薬の投与などで自発運動活性が亢進した状態でも、見かけ上無動行動が抑制された結果となることから、前記した自発運動活性測定試験により、試験物質が動物の自発運動活性には影響を与えないことを確認しておくことが重要である。

(2) 尾懸垂水泳試験

尾懸垂試験は、強制水泳試験に類似した理論に基づいて、マウスの抑うつ様行動を評価する方法として開発されたものである。マウスの尾を試験装置内に設置した棒に固定し逆さの状態では吊ると、逃避行動の後に無動行動（動作を示さずぶら下がっている状態）が認められるため、一定時間中に認められる無動行動の発現時間を抑うつ様行動として評価する⁸⁾（図10）。強制水泳試験と同様に、本試験で認められる無動行動も、実験動物が暴露された環境からの逃避を放棄した絶望状態を意味するものと考えられ、臨床上有効性が認められている既存の抗うつ薬により特異的かつ有意に抑制される。

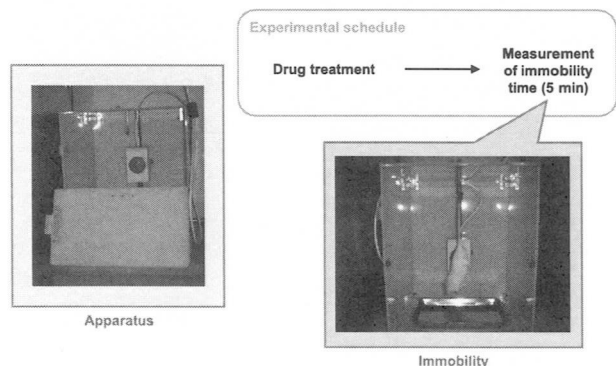


図10 尾懸垂試験の実験風景と実験スケジュールの1例
Figure 10 The experiment scenery and an example of the experimental schedule of the tail suspension test

(3) 学習性無力試験

学習性無力試験は、回避ならびに逃避が不可能な電撃ストレス刺激を負荷した動物において誘発される、能動的回避・逃避反応の障害を基盤として開発された評価法である。本試験の方法は複数種存在するが、本稿では最も一般的な、床面に電撃刺激負荷用のグリッドを設置した2-コンパートメントシャトルボックスを用いた方法について概説する（図11）。まず、両コンパートメント間を移動できない状態にしたシャトルボックス内に動物を入れ、逃避不可能な電撃刺激を負荷する。その24時

間後に、両コンパートメント間を自由に移動できる状態にした装置内に再度動物を入れ、条件刺激（音あるいは光刺激）に続く逃避可能な電撃刺激を一定回数負荷する。この間に動物が示す回避（条件刺激のみで隣のコンパートメントに移動する）行動および逃避（電撃刺激を受けた時点で隣のコンパートメントに移動する）行動の回数を測定し、これら両行動の障害を抑うつ様行動として評価する。本試験の特徴は、上記した強制水泳試験や尾懸垂試験とは異なり、発現する能動的回避・逃避反応の障害が、抗うつ薬を複数回投与することによりはじめて改善されることにある⁹⁾。このことは、抗うつ薬の治療効果発現には慢性的な服用が必要であるとの臨床的事実を一部反映しているものであり、ヒトにおけるうつ病に近い病態の特徴を有した抑うつモデルと考えられる。しかし、実験の手続きが複雑なため、試験の実施に際してはある程度の熟練が必要となる。

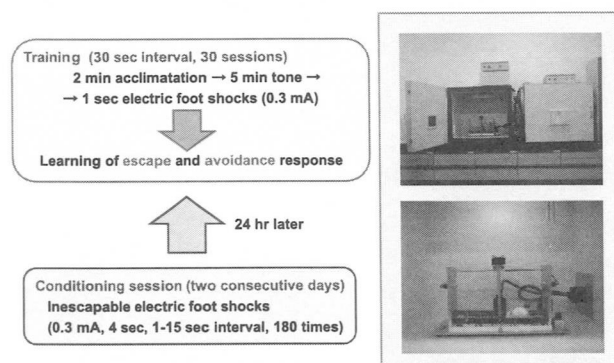


図 11 学習性無力試験の実験風景と実験スケジュールの 1 例

Figure 11 The experiment scenery and an example of the experimental schedule of the learned helplessness test

5. 学習・記憶関連行動の評価

学習・記憶は、得られた情報を脳に蓄積し、さらに蓄積した情報に基づいて新たな推論や意志決定を行うための重要な脳機能である。また、認知症に代表される学習・記憶機能の障害は、患者本人はもちろんのこと、周囲の人々の日常生活にまで多大な影響をもたらす。現在、我が国は超高齢社会を迎え、認知症をはじめとする学習・記憶障害を伴う様々な疾患が急増している。また、科学技術の発展により複雑化した現代社会は、小児の成

長・発達障害や薬物乱用など、学習・記憶障害と密接に関連する様々な問題を浮き彫りにしている。したがって、学習・記憶障害の病態解明や有効な予防・治療法の開発は、現代の生命科学研究に課せられた重要な課題である。この課題を克服することを目的として、基礎研究の領域では動物の学習・記憶機能の検討や学習・記憶障害に対して有益な効果を示す化合物の検索に役立つ評価系が数多く開発されている。以下の項では、代表的な学習・記憶関連行動の評価系（モリス型水迷路試験、受動的回避学習試験、放射状迷路試験、新奇物体認識試験）について概説する。

(1) モーリス型水迷路試験

本試験は、実験室の空間情報を手がかりとした動物の逃避行動を利用した、空間記憶の評価系である¹⁰⁾。実験装置としては動物から見えなように水面下 5～10mm に逃避用プラットフォームを設置した大型の円形プールを用い、プールを設置した実験室には、壁に黒色の画用紙を張ったり一か所をライトアップするなど、空間認識の手掛かりとなる情報を用意する（図 12）。試験は訓練試行とプローブ試行で構成されるが、訓練試行では、動物をプラットフォームの設置場所を基準として 4 分割した任意の 1 区画より水面に放ち、プラットフォームに到達するまでに要する遊泳時間や遊泳距離を測定する（規定の時間内にプラットフォームに到達できなかったマウスは、実験者がプラットフォームに誘導する）。この操作を 1 日あたり 3～4 回繰り返しトータルで 7～10 日間実施することにより、プラットフォームに到達するまでに要する遊泳時間や遊泳距離が短縮することを学習・記

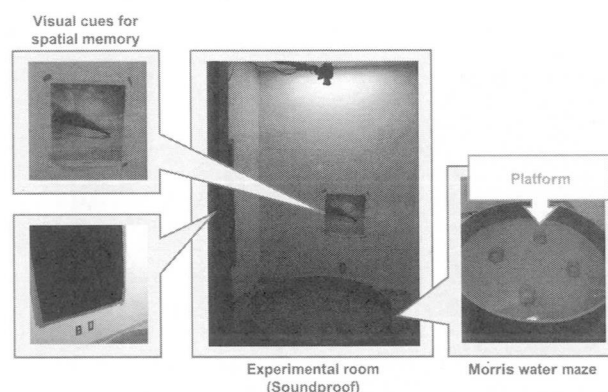


図 12 モーリス型水迷路試験の実験風景

Figure 12 The experiment scenery of the Morris water maze test

憶の指標とする。また、訓練試行が終了した翌日にはプローブ試行を実施する。プローブ試行ではプラットホームを撤去したプール内に動物を放ち、プラットホームを設置していた 4 分割区域を遊泳する時間を学習・記憶の指標とする。

(2) 受動的回避学習試験

本試験は、動物が暗い場所を好む習性と、一度経験した嫌悪刺激に対して示す回避行動を利用する学習・記憶評価法である¹¹⁻¹³⁾。実験装置としては、明暗 2 区画で構成される 2-コンパートメントボックスの暗区画の床面に、電撃刺激負荷用のグリッドを装着したものをを用いる。試験は、トレーニングとテストの 2 セッションで構成される (図 13)。トレーニングセッションでは動物を明区画に入れ、動物が暗区画に移動したと同時に電撃刺激を負荷する。トレーニングセッション終了後、一定期間 (通常は 24 時間) 経過した後テストセッションを実施する。テストセッションでは再度明区画にマウスを入れ、暗区画へ移動するまでの時間を反応潜時として測定する。この反応潜時の延長が嫌悪刺激に対する回避行動であり、学習・記憶の指標となる。本試験の特徴は、獲得、保持および想起の 3 つの学習・記憶プロセスそれぞれに対して、試験物質の効果を評価できることにある。すなわち、トレーニングセッション実施の前および後に試験物質を投与した場合は、それぞれ獲得および保持に対する効果を評価することになる。一方、試験物質をテストセッションの実施前に投与した場合は、想起に対する効果を評価することになる。なお、本試験では動物の

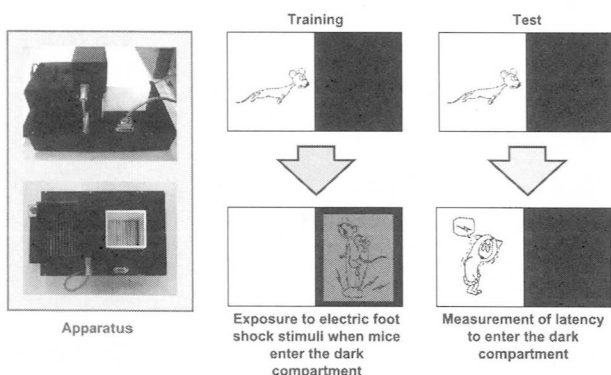


図 13 受動的回避学習試験装置と実験スケジュールの 1 例

Figure 13 The apparatus and an example of the experimental schedule of the passive avoidance test

疼痛閾値の変化が実験結果に大きな影響を及ぼすため、試験物質の投与により動物の電撃刺激に対する仮性疼痛反応が変化しないことを確認する必要がある。

(3) 放射状迷路試験

本試験は、動物の採餌行動を利用した迷路課題であり、空間作業記憶と参照記憶を同時に評価できるのが特徴である¹⁴⁾。実験装置には図 14 に示すような 8 方向放射状迷路を用いるのが一般的である。本試験では実験に先立ち動物に食餌制限を行ない、実験終了まで体重を自由摂食時の 85% に維持する。試験方法としては、まず装置と餌ペレットへの馴化を目的として、数日間にわたり 1 日あたり 10～15 分間、全てのアームの先端に餌ペレットを置いた迷路内を動物に自由に探索をさせる。その後、8 本のアームのうち連日同じ 4 つのアームの先端に餌ペレットを置いた迷路内において、動物が全ての餌ペレットを採り終えるか、あるいは一定時間 (通常は 5 分程度) 経過するまでの行動を観察する。本試験は 1 日あたり 1～2 試行、7～10 日間にわたり実施し、一度進入したアームに再進入した回数 (作業記憶エラー数) や、餌ペレットを置いていないアームに進入した回数 (参照記憶エラー数) を測定する。これら作業記憶エラー数および参照記憶エラー数が経日的に減少することを、それぞれ空間作業記憶と参照記憶の指標とする。

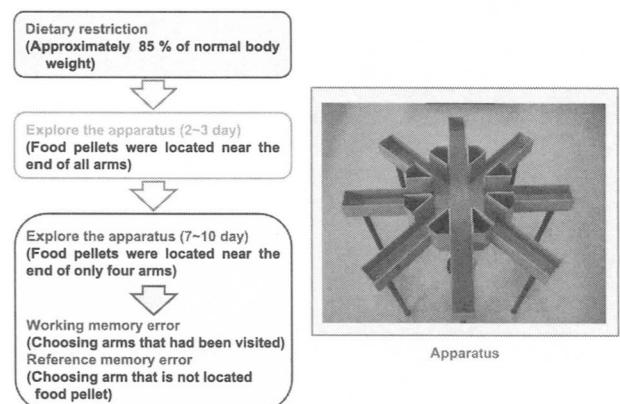


図 14 放射状迷路試験装置と実験スケジュールの 1 例
Figure 14 The apparatus and an example of the experimental schedule of the radial arm maze test

(4) 新奇物体認識試験

本試験は、動物が新奇性を好むという特性を利用したものであり、順化、訓練試行および保持試行の 3 つの手

続きで構成される¹⁵⁾。まず、数日間にわたり1日1回10分間程度、オブジェクト（物体）を設置していない実験装置に動物を入れ、環境に順化させる。その後、同じ2つのオブジェクトを置いた装置内で一定時間（10分間程度）自由に探索させる（訓練試行）、さらに一定時間（1～24時間程度）経過した後に、片方を新奇のオブジェクトに入れ替えた装置内で訓練試行と同様に自由に探索させる（保持試行）。訓練試行ならびに保持試行では、装置内に設置してある2つのオブジェクトに動物が接触する時間を測定する。健常な動物は、訓練試行では2つのオブジェクトに均等に接触するが、保持試行では入れ替えられた新奇のオブジェクトの方により長時間接触する。このような新奇のオブジェクトへの接触時間の延長を、学習・記憶の指標とする（図15）。

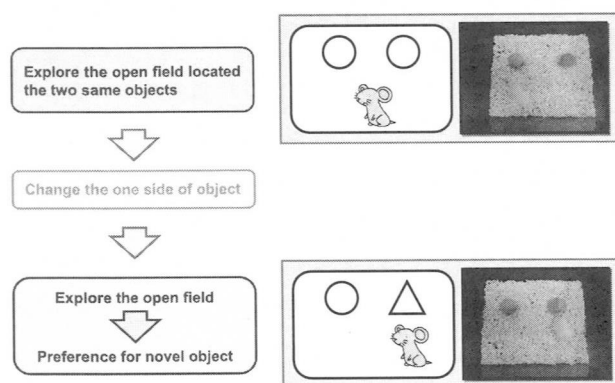


図15 新奇物体認識試験の実験風景と実験スケジュールの1例

Figure 15 The experiment scenery and an example of the experimental schedule of the novel object recognition test

6. おわりに

現代社会は多種多様なストレスに暴露される環境にあるため、うつ病や不安障害などのストレス性精神疾患の発症が急増している。また、超高齢社会を背景として、認知症の罹患率も年次を追って増加している。このような社会は、国民の活力や生産性の低下を招くため、適切な予防法や治療法の確立が急務である。現在、臨床使用されている既存の治療薬は、いずれも一定の有効性は担保されているものの、必ずしも満足のいくものではない。例えば、抗うつ薬は即効性に乏しく、全患者の3～4割は薬物治療に抵抗性を示す難治性である。また、認知

症の治療薬に関しては、中核症状の進行を遅延させる効果は有するものの、根本的な治療には至らない。最近、補完代替医療の一環として、情動障害や学習記憶障害に対する各種栄養素あるいは食品成分の有用性が注目されている。しかし、これら臨床的知見を裏付ける基礎研究はさほど多くなく、科学的根拠に基づいてより安全かつ有効に治療や予防を行うためには、様々な観点から詳細な薬理学的検討を行う必要がある。本稿では、脳機能に対する栄養素あるいは食品成分の効能の評価に有用と考えられる、各種の行動薬理学的評価法を紹介した。今後、これら評価法を駆使した薬理学的研究が推進されることにより、脳機能に及ぼす各種栄養素および食品成分の効能の科学的根拠が確立されることを期待する。

<参考文献>

- 1) Takeda H, *et al.*; *Eur J Pharmacol* 350, 21-29, 1998
- 2) 辻 稔, 他. 日薬理誌 126, 88-93, 2005
- 3) 大関三夫, 他. 東医大誌 63, 41-49, 2005
- 4) Brandon EP, *et al.*; *J Neurosci* 18, 3639-3649, 1998
- 5) Mori *et al.*; *Biomed Res* 32, 67-72, 2011
- 6) Crawley J, Goodwin FK.; *Pharmacol Biochem Behav* 13, 167-170, 1890
- 7) Miyamoto J, *et al.*; *Eur J Pharmacol* 409, 81-84, 2000
- 8) O'Reilly *et al.*; *Neuropsychopharmacology* 31, 1919-1927, 2006
- 9) Bougarel L, *et al.*; *Psychopharmacology* 215, 595-605, 2011
- 10) Manabe T, *et al.*; *Nature* 394, 577-581, 1998
- 11) Tsuji M, *et al.*; *Neuropsychopharmacology* 28, 664-674, 2003
- 12) Chan *et al.*; *J Nutr Sci Vitaminol* 52, 266-273, 2006
- 13) Ueda *et al.*; *J Nutr Sci Vitaminol* 57, 36-41, 2011
- 14) Pu *et al.*; *J Pharmacol Sci* 94, 393-402, 2004
- 15) Mori *et al.*; *Biomed Res* 32, 67-72, 2011

■バイオテクノロジー研究会

高い健康ベネフィットを有するオメガ-3 脂肪酸を産生する モンサント・カンパニーの遺伝子組換えダイズの食品利用に向けた進展

リチャード・S・ウィルクス*

1. 要約

オメガ-3 脂肪酸 (n-3PUFAs) が心血管系疾患に果す役割など、長鎖多価不飽和脂肪酸 (LC-PUFAs) の健康効果は、広く文献に報告されている。このなかでも、エイコサペンタエン酸 (EPA 20:5 n-3) とドコサヘキサエン酸 (DHA 22:6 n-3) を含むオメガ-3 脂肪酸は、心血管系疾患の予防という観点から特に注目を集めている。

これらの LC-PUFAs の主要供給源は、油脂分の多い魚である。しかし食生活がますます西洋化しつつある中で、魚から十分なレベルの LC-PUFAs 摂取量を維持するのは、魚の乱獲や魚の重金属汚染に対する懸念からも困難になりつつある。西洋式の食生活において最も多く摂取される n-3PUFAs は α -リノレン酸 (ALA 18:3 n-3) であるが、ALA は EPA への変換効率が良くないことが報告されている。消費者は、サプリメントよりも食品から LC-PUFAs を摂取したいと望んでいるが (Natural Marketing Institute, 2008)、魚油を食品に添加することは、風味や品質保持期間の点から困難であることが分かっている。以上のことから、食品の原材料として幅広く使用でき、LC-PUFAs の効果が得られる、持続可能な n-3PUFAs の代替供給源が必要とされている。

こうしたニーズを踏まえ、ALA から EPA に至る過程の中間代謝産物であるステアリドン酸 (SDA 18:4 n-3) を含んだダイズ油を生産するため、当遺伝子組換えダイズが開発された。SDA は n-3PUFAs の持続可能な供給源として、SDA がヒトに摂取されると、より多くの EPA が生産される。精製された SDA ダイズ油には、約 20% ~ 30% (全脂肪酸に占める割合) の SDA が含まれる。SDA は、EPA や DHA よりも二重結合が少なく、

魚油に比べて酸化安定性に優れているため、様々な食品において利用が可能であり、食品メーカーや消費者にとっても選択の可能性が広がる。SDA ダイズ油はマーガリン、マヨネーズ、サラダドレッシング、飲料、ソース、スナック、インスタント食品など、多種多様な食品に利用可能である。

オメガ-3 インデックス (O3I) など、心血管系疾患のマーカーに及ぼす SDA ダイズ油の効果を評価するため、いくつかの臨床栄養学的研究が行われている。O3I は、赤血球における EPA および DHA の割合を測定したものであるが、その値が高いほど、心血管系疾患のリスクが低下する。健康なボランティア被験者によるランダム化二重盲検プラセボ対照試験で、被験者を3つのグループに分けて試験を行った。第一グループは従来のダイズ油を摂取、第二グループは SDA ダイズ油 (1日当り 4.2g の SDA を含む) を摂取、第三グループは EPA (1日当り 1g) を摂取した。試験開始後 12 週目には、SDA ダイズ油を投与した群では、従来型のダイズ油に比べ、O3I 値が有意に増加した。EPA を投与した群との O3I 値との比較では、増加に有意な差は見られなかった。この結果は、以前に実施された SDA エチルエステル体と SDA ダイズ油を用いた小規模試験から得られたデータを確認するもので、SDA の摂取によって赤血球細胞膜中の EPA 含有量が有意に増加することを示している。これらの研究結果は、SDA の摂取がヒト組織中の EPA 含有を上昇させる相対的効率性が、EPA を摂取した場合の約 3 分の 1 から 5 分の 1 であることも示している。

*モンサント・カンパニー (米国ミズーリ州セントルイス)、バイオテクノロジー応用食品開発担当部長 (Director - Food Applications)

2. はじめに

長鎖オメガ-3 脂肪酸 (n-3 LC-PUFAs)、いわゆるオメガ-3 脂肪酸 (n-3PUFAs) については、心血管系疾患に与える健康効果などが学術論文 (Leaf *et al.*, 2003) として報告されている。また、n-3PUFAs の効果に関する消費者の認識の高まりとともに、その消費量も増加している。米国の栄養ガイドラインには n-3PUFAs の具体的な推奨摂取量はまだ示されていないが、世界保健機関 (WHO)、アメリカ心臓協会 (American Heart Association)、アメリカ栄養士会 (American Dietetic Association) といった組織は、1 日当たり 250 ~ 500mg の摂取を推奨している。しかし、各国のデータベース、とりわけ欧州食品安全機関 (EFSA)、米国全国健康・栄養調査 (US NHANES) など、西洋式の食事が普及した国々のデータベースから明らかなように、世界の多くの地域では、n-3PUFAs の摂取量は、推奨量に達していない。WHO の報告によると心血管系疾患は今も世界の主要な死亡要因である。n-3PUFAs を摂取するためのサプリメントの販売量は増加しているが、n-3PUFAs を食品製造の原材料として利用することには、風味や品質保持期間の面で、脂質酸化に関連する問題点が多い。n-3PUFAs の全体的な摂取量を増加させるためには、n-3PUFAs の健康効果が得られ、しかも食品に容易に添加できる n-3PUFAs の新たな供給源を見出す必要があるだろう。それゆえ、ステアリドン酸 (SDA 18:4 n-3) を含有する遺伝子組換えダイズは、n-3PUFAs 摂取量を増加させる好機をもたらす可能性がある。

3. ステアリドン酸 (SDA)

植物油や一部のナッツ類に最も多く含まれる n-3PUFAs は、 α -リノレン酸 (ALA 118:3 n-3) である。しかし残念なことに、ALA から、高い健康効果が期待できるエイコサペンタエン酸 (EPA 20:5 n-3) への変換効率はあまり高いとは言えず、そのレベルは Δ 6 デサチュラーゼ (不飽和化酵素) に律速されていることが広く報告されている。一方、ステアリドン酸 (SDA 18:4 n-3) は、ALA の不飽和化によって得られる中間代謝産物で、EPA への変換効率が ALA より高い。ダイズに不飽和化酵素、具体的には Δ 6 または Δ 15 デサチュ

ラーゼを導入することにより、SDA を含有するダイズ (SDA ダイズ) を開発することができる。そして SDA ダイズから精製した油を摂取すれば、ヒト体内の EPA 量が増加する。Akoh と Vazquez が行った分析 (Akoh and Vazquez, 2011) から、SDA ダイズ油の脂肪酸組成が明らかになっている (表 1 を入れる)。

表 1 SDA ダイズ油の脂肪酸組成

Table 1 Fatty acid profile of SDA soybean oil

脂肪酸	SDA ダイズ油 Wt % (1)	市販のダイズ油 Wt % (2)
パルミチン酸(16:0)	12.2	11.0
ステアリン酸(18:0)	4.2	4.0
オレイン酸(18:1 n-9)	15.9	23.0
リノレン酸(18:2 n-6)	24.5	54.0
リノレン酸(18:3 n-6)	7.2	N.D.
リノレン酸(18:3 n-3)	10.8	8.0
ステアリドン酸(18:4 n-3)	23.7	N.D.

1. Luis Vazquez and Casimir C. Akoh, ジョージア大学 (未発表データ)
2. Wang 2002

n-3PUFAs の供給源を海洋資源のみに依存するのは、長期的な供給持続可能性という点で不安がある。その点、SDA ダイズは供給持続可能性のより高い選択肢であり、食品に添加することで EPA の健康効果が得られる。

前述のとおり、植物油に含まれる n-3PUFAs は ALA であり、ダイズ油、ナタネ油、亜麻仁油など幅広い供給源が挙げられる。これらの油は、製品の風味を損なったり、品質保持期間を短縮したりすることなく、容易に食品原材料として利用することができる。しかし、健康面での効果については、ヒトの体内における ALA から EPA の変換効率は高くない。

一方で、EPA などの長鎖多価不飽和脂肪酸 (LC-PUFAs) は、(ALA に比べて) 健康面でのより高い効果が期待できる。しかしながら、EPA を含む油を食品に添加した場合には、酸化や悪臭などの問題が伴う。そうした点で、SDA ダイズ油は幅広い食品に添加できる油であり、同時に EPA の心臓健康効果が得られることから、両面のニーズをバランス良く満たしていると言える。

4. 栄養効果に関する研究

LC-PUFAs の健康効果は、イタリアの GISSI-Provenzionne 臨床試験 (1999) の主要な調査結果、その他の主要な研究 (Kris-Etherton *et al.*, 2002) をはじめ、これまでも広く報告されてきた。また、横山らの報告

(Yokoyama *et al.*, 2007) によると、高純度 EPA 製剤に関する大規模臨床試験「JELIS (Japan EPA Lipid Intervention Study)」により、EPA を補給するだけで、DHA を追加的に補給しなくても、心血管系疾患のリスクを低下させることが確認された。現在、食事中的 SDA の効果を実証するプログラムが実施されている。

ジェームスらの報告 (James *et al.*, 2003) によると、エチルエステル型の SDA を用いた研究により、SDA 摂取によりヒト組織内の EPA 量が増加することが実証された。この研究結果を精査したところ、EPA と比較した場合の相対効率は約 4:1 であった。ハリスらによって行われた研究 (Harris *et al.*, 2008) では、EPA および SDA ダイズ油 (SDA 20% 含有) が、赤血球における EPA および DHA 量 (O3I) に及ぼす効果を比較している。オメガ-3 インデックス (O3I) は、最近注目されるようになったマーカーで、心血管系疾患のリスク指標として用いることができる (Harris and Von Schacky, 2004)。過体重であるが健康なボランティア被験者を、SDA-SBO 群 (1 日当り 24 ml、SDA 約 3.7g に相当) と、1 日当り約 1 g の EPA エチルエステルを添加した通常のダイズ油群と、EPA 添加なしの通常のダイズ油群 (対照群) との 3 つの群に無作為に割り振り、16 週間にわたって試験を行った後、33 人の被験者 (各群 11 人) に対してプロトコル適合解析を行った。試験開始時に比べ、O3I の平均値は、SDA 群で 19.5%、EPA 群で 25.4% 上昇した。また EPA を基準とした場合に、SDA は、約 17% の効率で赤血球細胞の EPA を増加させた。これにより、SDA を豊富に含むダイズ油は、O3I を有意に上昇させることが明らかになった。

より最近の研究としては、Lemke らが複数施設において実施した、ランダム化二重盲検プラセボ対照試験があげられる (Lemke *et al.*, 2010)。この研究では、252 人の過体重の被験者を、3 つの処置群のいずれかに無作為に割り振り、12 週間にわたって試験を行った。3 つの処置群とは、①1 日当り 1 g のダイズ油カプセル剤に加え、1 日当り 14.7 g の液体ダイズ油を食品に混入して投与 (対照群)、②1 日当り 1 g の EPA カプセル剤に加え、1 日当り 14.7 g の液体ダイズ油を投与 (EPA 群)、③1 日当り 1 g のダイズ油カプセル剤に加え、1 日当り 14.7 g の SDA を豊富に含有する液体ダイズ油 (SDA 4.2 g に相当) を投与 (SDA 群) である。被験者は、通常の食事に含まれる他の油の代わりとして上述した各処

置群の油を摂取した。結果は、図 1 に示す通りである。試験開始時における O3I の平均値や赤血球中の EPA 含有量は、処置群間でほとんど違いがなかった。しかし、処置開始後 12 週目の O3I 値は、EPA 群および SDA 群では有意な上昇が見られたのに対し、対照群では上昇しなかった。この O3I 値の上昇は、赤血球中の EPA 含有量が増加したことによる。EPA に対する SDA の相対効率は、18.3% (比で表わすと 1:5.5) であった。以上から、日常摂取する食品に SDA ダイズ油を添加することで、O3I 値が上昇すると考えられる。また、O3I 値の変化は、投与期間および用量に関係し、一次速度則に従う。

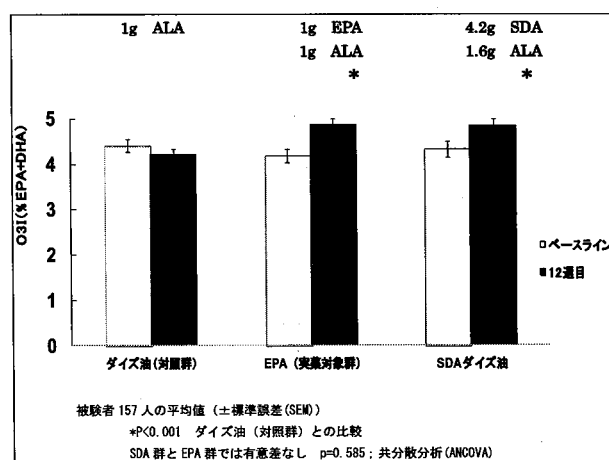


図 1 オメガ 3 指数に及ぼす SDA および EPA の効果
Figure 1 Effect of SDA and EPA on the omega-3 index

5. 食品における SDA ダイズ油の利用

n-3PUFAs を食品原材料として利用する際の最大の問題は、酸化安定性である。脂肪酸の不飽和度、すなわち二重結合の数が増加するにつれて、脂質酸化に対する感受性が高まることから、食品の製造時においても、また製造後の品質保持期間中も、風味を維持するのが困難になる。そのため、Frost & Sullivan 社が最近報告したように、n-3PUFAs を豊富に使用した食品とは、未だ期待されたほど増えておらず、その潜在的ニーズに応えられずにいる。n-3PUFAs はサプリメント分野では著しい成長を遂げているものの、マーケティング調査から確認されているように、消費者は、食品を通じて心血管系の健康を促進することを望んでいる。SDA ダイズ油は、海産物由来の油に比べ酸化安定性が高い。従って食品

メーカーにとって SDA ダイズ油は、風味や品質保持期間を損なわずに、LC-PUFAs の健康効果を期待できる原材料として新たな選択肢を提供するものである。

SDA ダイズ油の酸化による影響についても、評価が行われている。米国油化学会 (American Oil Chemists Society) が推奨するオープン貯蔵試験 (AOCS, 1997) により油の劣化を調査した研究では、様々な酸化防止剤で処理した SDA ダイズ油を 25℃ の温度で長期間にわたって暗オープン内に貯蔵し、評価を行った。この研究では、全期間を通じて、酸化指標である過酸化価 (PV) のモニタリングが行われた。油の PV が著しく増加し始める時点までの期間は誘導期と呼ばれ、この期間を過ぎると油の酸化が急速に進行し、食用として使用できなくなる。この研究の結果は、図 2 に示す通りであった。食用油業界で広く使用されているクエン酸のみを添加した SDA ダイズ油の誘導期は 50 日で、酸化防止剤を一切加えていない SDA ダイズ油の 20 日と比べて誘導期が延長された。これまた一般的な抗酸化剤である α -トコフェロール (TBHQ) を併せて添加すると、誘導期はさらに長くなり、250 日を上回った。

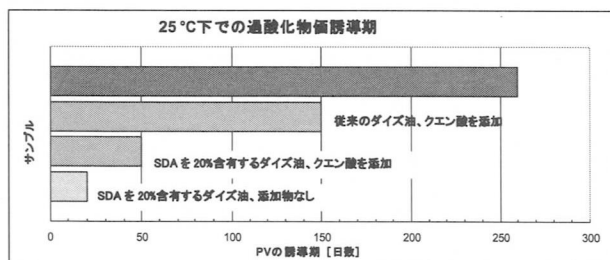


図 2 様々な抗酸化剤で処理した SDA ダイズ油の過酸化価誘導期

Figure 2 Peroxide value induction times of SDA soybean oil with different antioxidant treatments

また、訓練を積んだ官能検査員によって 25℃ で貯蔵した SDA ダイズ油と市販のダイズ油とを比較する評価も行われた。3 か月後の時点で、全体的な風味強度において SDA サンプルと市販のダイズ油との間で違いはなく、両者とも風味強度は 15 ポイントのスケールで 1 と非常に低かった。SDA ダイズ油サンプルからはわずかに風味の変化が感知されたが、評価はやはり 15 ポイントスケールの 1 で、一般的な消費者には感知されないレベルであった。

SDA ダイズ油は、風味が淡泊であることから、幅広

い用途に利用できる可能性がある。例えば、乳化食品 (マーガリン/スプレッド、ショートニング、マヨネーズ、サラダドレッシング、ピーナッツバターなど)、乳製品 (ヨーグルト、植物油脂クリーム、サワークリーム、ディップ、チーズなど)、飲料 (スムージー、豆乳、果汁、フルーツ飲料も含む)、パン・焼菓子類 (パン、クッキー/クラッカー、マフィン、ベーグル、ペストリー、ケーキ、シリアルバー、エネルギーバーなど)、調理済み食品 (スープ、ソース、惣菜など) などが考えられる。SDA ダイズ油を用いた各種食品の試作品を用意し、風味や品質保持期間、さらにより重要な点として消費者受容性に対する SDA ダイズ油の影響を評価した。過去の臨床試験に基づき、相対変換率や n-3PUFAs と EPA の推奨摂取量なども考慮に入れ、1 食当りの SDA 摂取量目標値を 375 mg とした。

一例として、フルーツ・ナッツ入りグラノーラバー (ミューズリーバー) を試作し、SDA ダイズ油と他の n-3PUFAs の供給源とを比較・評価した。対照には、市販のダイズ油を用いた。油を砂糖とコーンシロップの混合物を含むバインダーシロップに添加した後、シリアルとドライフルーツミックスを混合した。混合したものをシート状に伸ばし、カットした後、個別パッケージに包装し、室温で 12 か月間保存した。試作したグラノーラバーのそれぞれについて、訓練を積んだ官能検査員が記述的試験法により風味・食感に関する調査項目として、全体的な香りと風味、甘味、フルーツの風味、油の風味強度、劣化臭、後味について評価を実施した。評価は、品質保持期限までの期間継続して行われた。図 3 は劣化臭に関する結果を示したものである。海産物・藻類由来の油を添加したサンプルについては、9 か月目以降は劣化臭が強すぎて、検査員は味見をすることができなかった。そのため、これらのサンプルについては、9 か月目の結果を図に示した。SDA ダイズ油を添加したサンプルの劣化臭の強さは、対照とした市販のダイズ油との間で違いがなかった。また検査員は、それぞれのバーの評価開始時点からの品質変化の度合いについての評価も行った。SDA ダイズ油入りバーは、12 か月の品質保持期間終了時において、品質変化の度合いが実際に最も少なかったという結果となった。

SDA ダイズ油を含有する日常的な食品として、クリームスープ、いちご飲料、フランクフルトソーセージ、ヨーグルト、ヨーグルト飲料、フルーツ・ナッツ入りグ

ラノーラバー、脂肪分 60% のマーガリンタイプスプレッド、マヨネーズなども試作されている (Whittinghill and Welsby, 2010)。図 4 に各種食品に関する消費者受容性を試験した結果を要約した。いずれの場合も訓練を受けていない消費者によるモニター試験を行った (35 ~ 60 名、個々の試験によって参加者数は異なる)。モニタリングは各試作品について市販のダイズ油を用いて作った対照と比較し、9 ポイントの嗜好尺度 (1 が極度に嫌い、9 が極度に好き) を用いて全体的な嗜好度、風味、香りを評価した。試験に用いた試作品は全て、それぞれ食品が製造から消費までに経ると想定される一般的な保存期間を経過した後に、サンプルとして供した。その結果、全体的な嗜好度に有意な差は見られなかった。従って、SDA 油を用いた食品と、対照の食品との間において、消費者受容性が同等であることが示された。

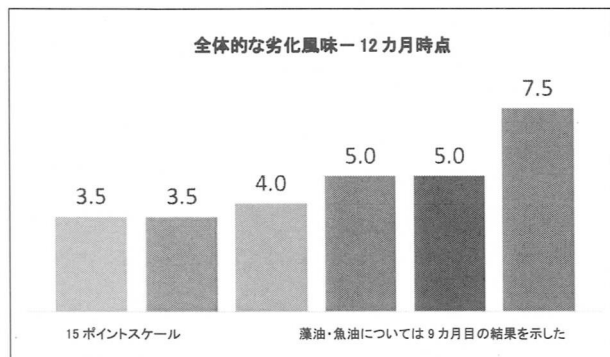


図 3 様々なオメガ 3 成分供給源を用いて製造したフルーツ・ナッツ入りグラノーラバーの劣化風味強度

Figure 3 Off flavor intensity of fruit and nut granola bars made with different sources of omega-3 ingredients

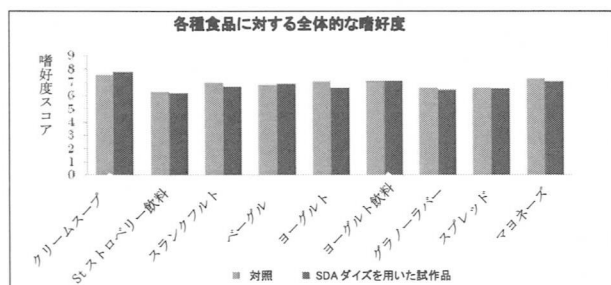


図 4 SDA ダイズ油を含む各種食品の消費者受容性

Figure 4 Consumer acceptance of a range of foods containing SDA soybean oil

6. 結論

n-3PUFAs の健康効果が報告され、その効果に対する認識が高まりつつあるにも関わらず、消費者の摂取量は未だ現行の推奨摂取量に比べ低いままである。現在利用されている n-3PUFAs 供給源は非常に酸化されやすいため、n-3PUFAs を含有する食品は風味・品質保持期間の面で課題が多く、期待されたほどには成功していない。こうした事情により、n-3PUFAs 原材料の新たな供給源が求められている中で、ALA から EPA に至る過程の中間代謝産物である SDA 酸を 20% 含む遺伝子組換えダイズの開発が成功した。臨床栄養学的な研究により、SDA を摂取すると、赤血球中の EPA が増加し、O3I が上昇する可能性があることが明らかになった。SDA ダイズ油は、風味が淡泊であることから幅広い食品に利用でき、しかも食品の品質や品質保持期間に影響を及ぼすことがない。また消費者受容性に関しても、SDA ダイズ油を用いた食品と市販のダイズ油を用いた食品とは同等であることが示された。以上を踏まえると、SDA ダイズ油は、食品メーカーが n-3PUFAs を含有する食品を消費者に提供する新たな選択肢として、有望であると言える。

<参考文献>

- 1) Akoh, C.C. and Vazquez. 2011. Unpublished data.
- 2) AOCS. 1997. Oven storage test for accelerated aging of oils. *AOCS recommended practice* Cg 5-97.
- 3) GISSI-Provenzione Investigators. 1999. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Provenzione trial. *Lancet* 354: 447-455
- 4) Harris, W.S., Von Schakey, C. 2004. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev Med* 39: 212-220
- 5) Harris, W.S., Lemke, S.L., Hansen, S.N., et al. 2008. Stearidonic acid enriched soybean oil increased the Omega-3 Index, an emerging cardiovascular risk marker. *Lipids* 43: 805-811
- 6) James, M.J., Ursin, V.M., Cleland, L.G. 2003. Metabolism of stearidonic acid in human subjects: comparison with the metabolism of other n-3 fatty

acids. *Am. J. Clin Nutr* 77: 1140-1145

- 7) Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J.
2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Circulation* 106:2747-2757
- 8) Leaf, A., Kang, J.X., Xiao, Y-F., and Billman, G.E.
2003. Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation* 107:2646-2652
- 9) Lemke, S.L., Vicini, J.L., Su, H., *et al.* 2010. Dietary intake of stearidonic acid-enriched soybean oil increases the omega-3 index: randomized, double blind clinical study of efficacy and safety. *Am J. Clin. Nutr.* 92: 766-775
- 10) Wang, T. 2002. Soybean Oil. In Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses. Frank D. Gunstone, ed. Blackwell Publishing Ltd.
- 11) Whittinghill, J., Weslby, D. 2010. Use of SDA soybean oil in bakery applications. *Lipid Technology* 22:203-205
- 12) World Health Organization. 2004. WHO Report: Global Burden of Disease.
- 13) Yokoyama, M., Origas, H., Matsuzaki, M. *et al.* 2007. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterlaemic patiens (JELIS): a randomized open-label endpoint analysis. *Lancet* 369:1090-1098

■食品安全研究会

毒性学的懸念の閾値概念と食品添加物の安全性評価

小西 陽一*

1. はじめに

近年、食品製造技術の進展による食の多様性が増すにつれ、消費者は健康管理の観点から食生活に高い関心を示している。わが国では平成15年7月に施行された食品安全基本法の食品の安全性確保に関する基本理念の下、内閣府に食品安全委員会が設置され、食品添加物などの安全性評価が実施されている。食品添加物や環境化学物質の安全性評価は、遺伝毒性試験と動物実験の結果を基に評価されてきたが、最近では構造活性相関データを加味したコンピューターを用いた *in silico* 解析も試みられている。

毒性学的懸念の閾値 (Threshold of Toxicological Concern、TTC) とは、全ての化学物質について、その閾値以下では明らかな健康影響はないとするヒトの暴露閾値の設定について述べた概念である。その実際は、化学構造が明らかな物質の主としてラットにおける経口投与毒性試験より得られた無毒性量 (No Observed Adverse Effect Level、NOAEL) を化学構造クラスによりその安全度に従い、3つのグループに分類したものである。このアプローチは、安全性未確認物質のリスク評価のみならず化学物質の安全性評価についての優先順位付けにも有用であり、動物実験削減の観点から FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) や欧州食品安全機関 (EFSA) で積極的に活用されている。

本稿では、環境化学物質の安全性評価の基本的概念と TTC の有用性、その活用と現況、更に、食品添加物のうちでも特に食品香料の安全性評価における TTC の積極的な活用による評価手段の国際統一への方向性について述べる。

2. 環境化学物質の安全性評価

環境中の化学物質のヒトに対する安全性評価の手段として、米国では1970年の後半に National Institute of Environmental Health Sciences/National Institutes of Health (NIEHS/NIH) の主導により National Toxicology Program (NTP) が発足し、ラットあるいはマウスを用いる2年間のがん原性試験が開始された。わが国においても、当時の厚生省が NTP 情報の重要性を認識し、所管の国立衛生試験所を中心に大学の病理医を主とする研究班が組織された。被験物質は Ames 試験陽性物質の中から社会的に重要度の高いものが選択された。

2年間のがん原性試験の成績が蓄積されるにつれ、ラットとマウスの試験結果が解離するなど、それらの試験結果を直接ヒトへ外挿して安全性を評価することに難点のあることが判明してきた。更に、この試験の実施には多大な費用、時間と労力を要することに加え、多数の動物を供するなど動物愛護の観点からも課題が明らかとなり、その試験継続の意義と質的向上に関する様々な論文が米国 Society of Toxicologic Pathology (STP) の学会誌に掲載されてきた。それらの論文では、経費削減と試験期間の短縮を目的とする代替法の現況とその有用性、試験で見出された増殖性・非増殖性病変の国際的病理組織診断基準と用語の統一、得られた結果の対照となる背景データの選択、試験結果の評価におけるヒトの暴露量との比較、被験物質の発がん機序とヒト生体内での代謝活性の重要性などが論じられ、実験動物を用いた長期がん原性試験の結果をヒトへ外挿することについての課題が指摘されている。更に、被験物質により誘発される DNA 障害メカニズムの有無の重要性や変異原性試験

*奈良医大名誉教授 オクラホマ医学研究財団客員教授

の結果と相関のない事例のあることが判明している。

しかしながら、一方で実験動物を用いた長期がん原性試験の重要性は現在もおも認識されており、その実施には事業者と行政側によるこの試験についての十分なコンセンサスが求められている。環境化学物質の安全性についての理念は図 1 に示すように被験物質のハザードまたはリスクが認められた時は、それらを特定してリスク管理し、リスクコミュニケーションにより一般消費者の理解を得るものとされている。

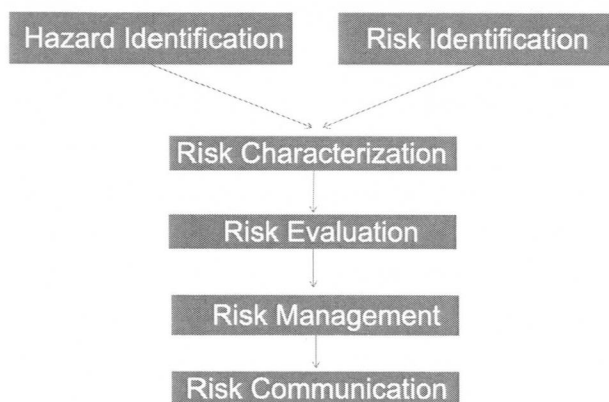


図 1 環境化学物質安全性評価の理念
Figure 1 Concept of safety assessment for environmental chemicals

3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC)

TTC の概念は、化学構造の類似した化学物質グループ、及びグループには分類できるが毒性が未確認の個々の化学物質の安全性評価を包括的に行う方法として、規制当局と科学者たちが 30 年以上の歳月を掛けて開発、発展させてきた。そのグループ分類を表 1 に示す。この分類は、ラットとウサギの経口投与毒性試験結果が公表されている 613 物質のデータを用いて考案された。このデータベースには亜慢性、慢性、及び生殖発生毒性試験の成績が含まれている。それらのデータより各物質の最も安全側に立った無影響量 (NOEL) を毒性の感受性が高い動物種と性から選び、613 物質の NOEL をそれらの構造式に従い 3 つのグループにプロットした (図 2)。TTC の分類作成に際し、特に以下の点が留意されている：

- ・食品中に、より低濃度で存在する化学物質がより多く検出できるように、分析能力を絶えず改良すること、
- ・ごく微量の化学物質の暴露は通常無害であるという

仮定が広く受け入れられていること、

- ・個々の化学物質の評価のための時間と配慮は、その化学物質の使用によってもたらされる健康リスクに見合うべきであるとの見解、
- ・毒性試験及び毒性評価の両方を遂行する能力を持つ毒性学上のリソースが世界的に限られていること、
- ・実験動物の使用を最小限に留めること、
- ・化学構造が関連する物質の作用を予測するために大量の既存の毒性データがあること。

表 1 TTC 概念に基づく化学物質の構造分類
Table 1 Cramer *et al.* structural classes

- ・ CLASS I = simple structures efficiently metabolized to innocuous products; anticipated low order of oral toxicity.
- ・ CLASS II = intermediate structures (less innocuous than substances in Class I, but no positive indication of toxic potential).
- ・ CLASS III = complex structures; metabolism to reactive products suggestive of potential toxicity.

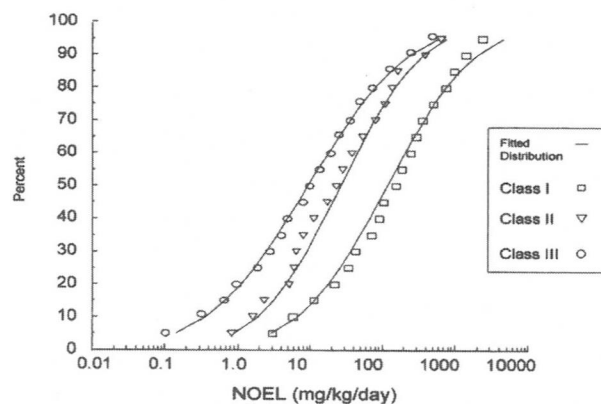


図 2 化学物質の構造クラスと無影響量(NOEL)との相関
Figure 2 Cumulative distributions of structural class NOELs

4. 食品の安全性評価に対する TTC の活用

TTC は食品中の香料、汚染物質や容器包装に含まれる化学物質の安全性評価に活用されている。また、TTC は

表 2 EU における FS の定義

Table 2 Classification of the flavorings based on the definition provided by the new EU regulation

Substances	Past	Present
Single	Natural Flavoring Substance	Natural Flavoring Substance
	Nature Identical Flavoring Substance	Flavoring Substance
	Artificial Flavoring Substance	
Complex	Flavoring Preparation	Flavoring Preparation
	Process Flavoring	Thermal Process Flavoring
	Smoke Flavoring	Smoke Flavoring
	—	Flavor Precursor
	—	Other Flavoring

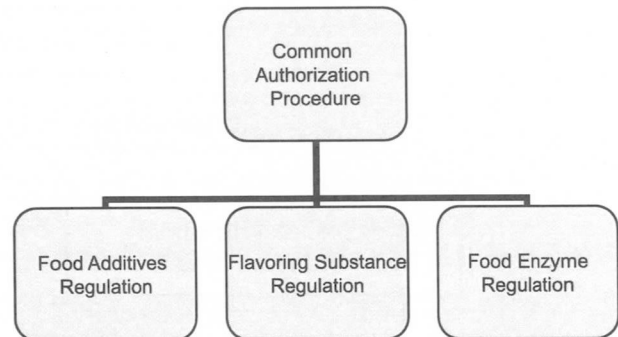


図 3 欧州における食品改良物質一括法の構成

Figure 3 Frame of food improvement agents package in EU

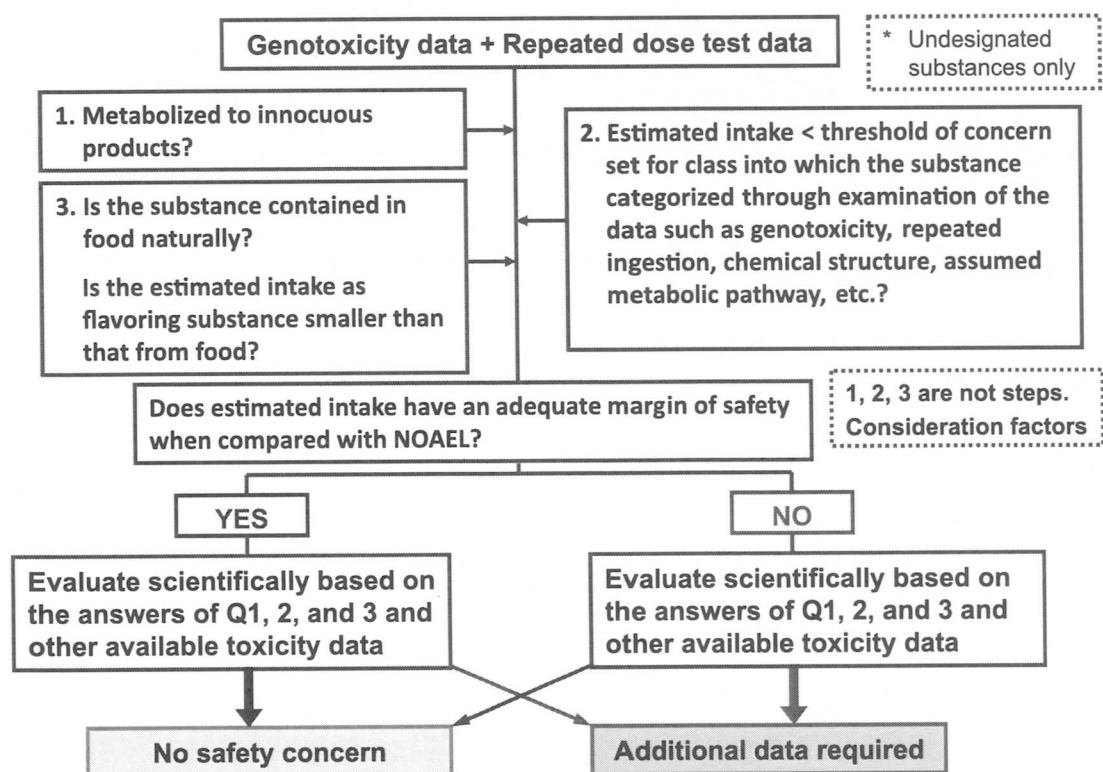


図 4 わが国における食品香料（FS）に対する安全性評価の判断樹

Figure 4 Flow chart of safety evaluation method applied in Japan for universally-used FSs

必須の分析データを明らかにするため、及び動物実験から推察するよりも安全側に立った“解析的評価の閾値”を設定するために用いることができる。しかしながら一方で TTC は、ミネラル、金属、ポリマー、生物濃縮する物質、タンパク質、内分泌攪乱物質、強力な発がん物質、消化管に局所作用を与える物質、ナノ物質、放射性物質、必須元素、並びに年齢 6 か月未満の乳児の食品素材の評価には活用できないとの報告がある。食品添加物の国際的動向を見ると、わが国では食品香料（flavoring

substance: FS）は他の添加物と同様の評価方法であるのに比べ、JECFA と米国及び欧州において FS は他の添加物と区別し独自に行われている（表 2、図 3）。JECFA においては FS の経口暴露量が極めて低用量であることなどその特長を踏まえ、FS の安全性評価に対し TTC を積極的に活用している。JECFA は現在までに約 2000 の FS 物質の評価をしているが、これまでヒトの健康に有害とする事例の報告はない。JECFA と EFSA 及びわが国における安全性評価の判断樹は図 4 から図 6 に示す。

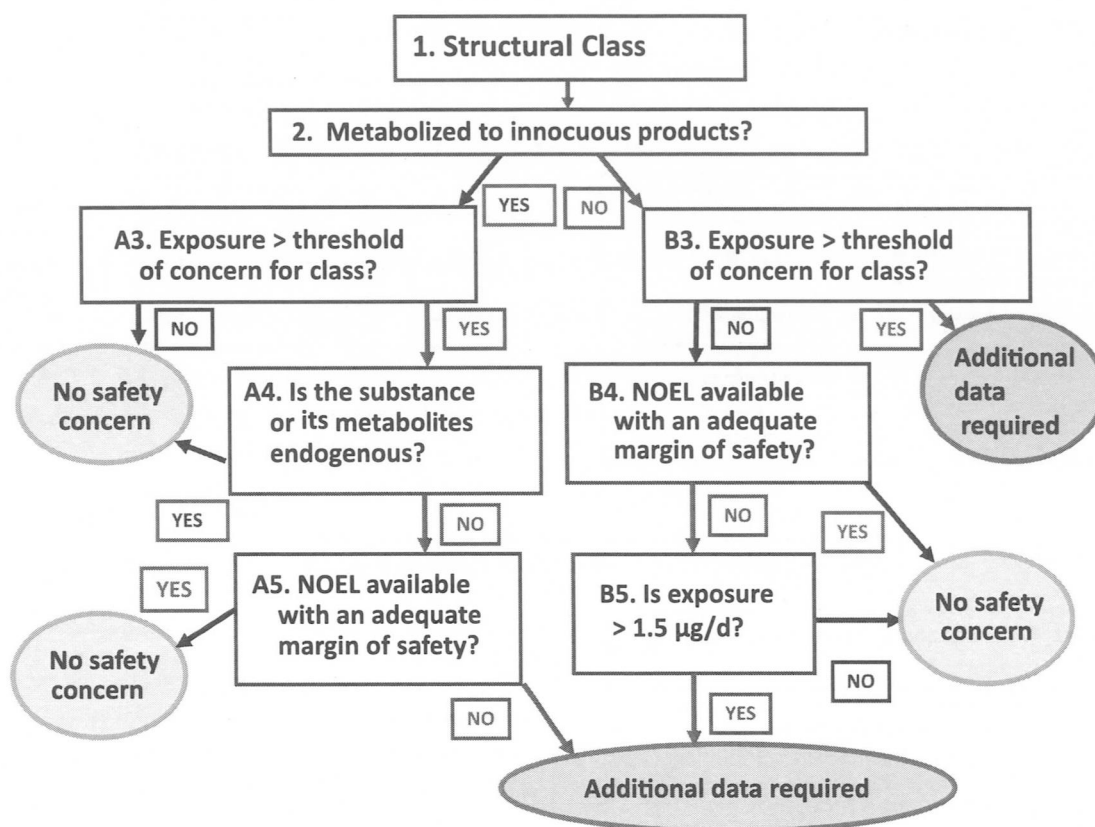


図 5 JECFA における FS の安全性に対する判断樹

Figure 5 JECFA evaluation procedure for flavoring substances

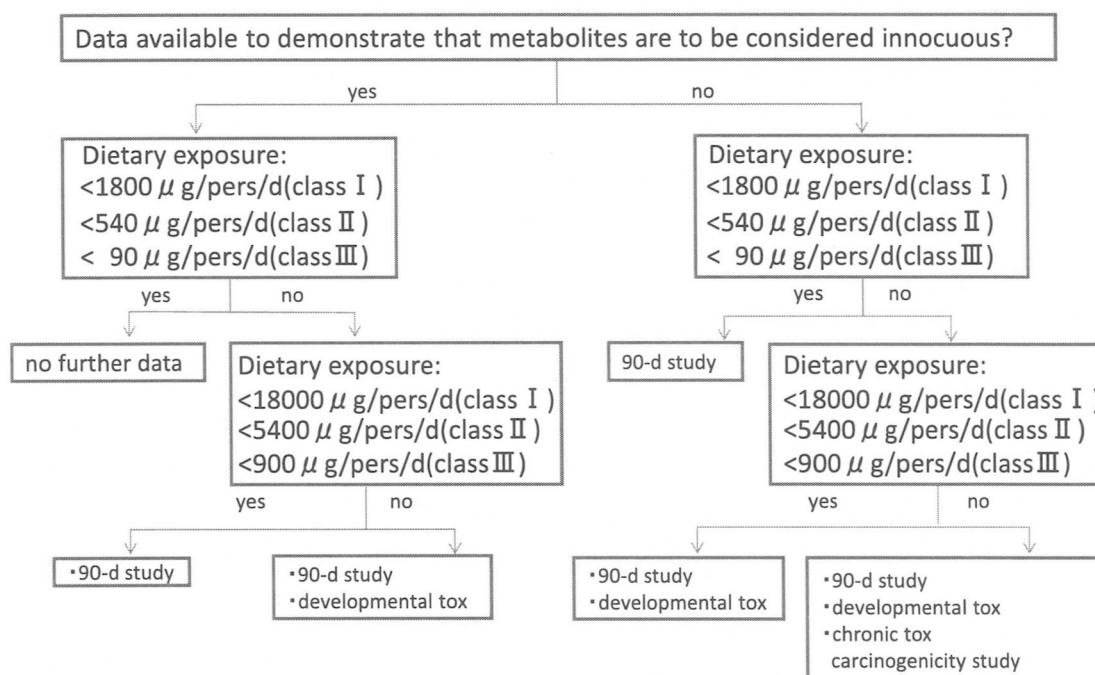


図 6 EFSA における FS の安全性に対する判断樹

Figure 6 Individual evaluation of the flavoring substance in EFSA

わが国においては、遺伝毒性と動物を用いた反復投与試験の結果を基に行われているのに対して、JECFA では TTC を重視し毒性試験の結果を必要としない。EFSA では第 1 段階として遺伝毒性の結果を評価するが、非遺伝毒性物質と同様の代謝経路を持つ物質についてはこの段階を省略している。次の段階での毒性評価は暴露値に基づく Cramer の分類閾値に相応するものと比較して行われる。わが国の安全性評価の基本概念はヒトの健康に及ぼす FS のゼロリスクを求める為に科学的根拠を重視している。

5. 食品香料 (FS) の特長

一般に食品成分は表 3 に示される。FS の暴露量は他の食品成分と比較して極めて低用量で ppm から ppb レベルである。表 4 は、1 年間に使用される食品添加物の推定使用量 (kg) と品目数を示す。約 3000 の香料物質が使用されており添加物中で最も多い。更に近年の世界市場で使用されている FS の数を図 7 に示す。わが国と

米国及び欧州において化学構造が解明されているものと自然香料の複合物など種々なものが使用されている。各国で使用されている FS はいずれも低用量暴露、単純な化学構造物でしかもその種類と使用濃度には自ら制限されるなど共通の特長を有している。

表 3 食品中の一般成分

Table 3 Characteristics of FSs-1
General components of food

Water	more than 95%
Protein	1~25%
Lipids	1~40%
Carbohydrate	1~80%
Mineral	1~5%
Vitamines	ppm
Flavoring substances	ppm~ppb

表 4 食品添加物の年間使用量と数

Table 4 Amounts of food additives being used per year (kg) and number of substances The results of investigation by the Ministry of welfare, Health and labor and the Japan Flavor and Fragrance Materials Association (JFFMA) in Japan

Agents	Amount consumed per year (kg)	Number of agents
Acidifiers	154,042,000	24
Seasonings	110,415,000	54
Non-nutritive sweeteners	87,644,000	7
Dietary supplements	25,276,000	74
Emulsifiers	17,950,000	5
Chewing gum bases	2,600,000	11
Preservatives	2,275,000	18
Anti-molding agents	1,860,000	5
Flavoring agents	1,427,000	about 3,000
Thickening agents or stabilizers	1,114,000	7
Antioxidants	775,200	18
Food colors	685,060	30
Bleaching agents	176,788	5
Color fixatives	93,000	3

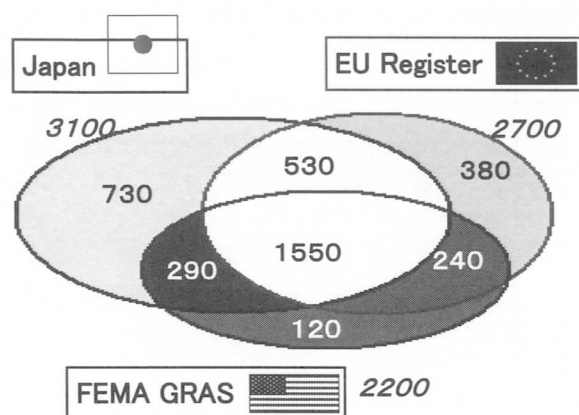


図 7 わが国と米国及び欧州で流通している FS 数
Figure 7 The numbers of FSs used in Japan, US and EU

6. 食品香料 (FS) の安全性評価に対する国際的統一の可能性

前述の如く TTC は動物実験を必要としない化学物質のヒトへの安全性を評価し得る有用な手段である。表 5 は Kroes により提唱された TTC の活用について示す。ここでは物質本来の構造または化学構造による分類と許容 1 日摂取量が示されている。最近 EFSA は TTC の活用を進展すべく生理化学的データや Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) 及び read-across 等コンピューターを用いた *in silico* におけるカテゴリー解析の結果の重要性を報告している。QSAR は、生体分子の構造や医薬品などの化学物質との分子レベルでの相互作用を解析するもので、化学物質と生体との相互作用により引き起こされる有害影響の説明に利用しうる。Read-across は、質的または量的な側面より成る。質的なものは、共通の化学構造を有し安全とされる同じカテゴリーに属する 2 つ以上の物質から安全性を推察するものである。量的 read-across とは同じカテゴリーに属し共通の化学構造を有する 2 つ以上の物質の用量情報を数学的に解析するものである。この手法を用いて得られた情報は、化学構造と毒性の関係よりも重要な情報となり得る。わが国の行政機関は JECFA や米国及び欧州で用いられている安全性評価手法に注目している。この機会をとらえ、2010 年に ILSI Japan は東京において「安全性評価における TTC の有用性」と題する国際シンポジウムを開催し、わが国における TTC の啓蒙に努め

た。この会の演者間のパネルディスカッションで TTC が FS の安全性評価に適するものであることへの同意がなされ、QSAR と read-across は TTC 活用の適応を一層明確にするための補助的手段として用いるのが良いとの意見が述べられた。FS の安全性評価の国際統一は香料の円滑な国際貿易に重要であるのみならず、ヒトの健康を守る為に必要なリスクコミュニケーションの手段としても重要である。

表 5 TTC 活用への提言

Table 5 Possible international harmonization for the safety assessment of FSs (proposed by Robert Kroes)

How to apply the TTC?

- Stepwise approach on a case by case basis:
 - Specific structural alerts? → NO TTC
 - All other structural alerts → TTC 0.15 μ g/person/day
 - Structural alerts excluded → OP ester? →
 - If OP ester → 18 μ g/p/day
 - Class III chemical? → 90 μ g/person/day
 - Class II chemical? → 540 μ g/person/day
 - Class I chemical? → 1800 μ g/person/day

7. 結語

食品添加物の安全性評価についての理念と TTC の活用について記した。食品添加物の中でも食品香料は暴露量が極めて低用量で単純な化学構造を有し、食品に使用される種類と濃度には自ら制限されるなどの特長を有している。これらの特長を考えると食品香料は他の添加物とは異なるカテゴリーに属するもので、その安全性評価への TTC 活用は適切なものと考ええる。更に QSAR と read-across の如き *in silico* 解析は TTC 活用の適応をより明確にするための補助的手法となり得るもので、これらの手法を併用することで評価法の国際統一の一助となる。

<追悼>

このプロシーディングを準備中に Dr. Ian C. Munro の

悲報に接した。博士の TTC 開発と活用に対する功績について謝意を表すると共に心からご冥福をお祈りします。

<謝辞>

本研究は財団法人日本食品化学研究振興財団の助成を受けた。林新茂博士は情報収集に、馬場俊尚氏には原稿作成についてご援助を頂き深謝する。

<参考文献>

- 1) ILSI Europe concise monograph series: Threshold of toxicologic concern ISBN 1-57881-188-0, 2005.
- 2) Munro, I.C., Ford, R.A. and Kennepole, E.J.G.: Correlation of structural class with no-observed-effect levels: A proposal for establishing a threshold of toxicologic concern. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 829-867, 1996.
- 3) Okamura, H.: Current global status of flavorings. *ILSI*, 103, 17-27, 2010. (in Japanese)
- 4) Konishi, Y. and Fukutomi, F.: Usefulness of threshold of toxicological concern concept for the risk assessment of flavors. *Japanese Journal of Food Chemistry*, 15, 51-56, 2008. (in Japanese)
- 5) Bassan, A., Fioravanzo, E., Pavan, M. and Stocchero, M.: Scientific Report submitted to EFSA on Applicability of physiochemical data, QSARs and read-across in Threshold of Toxicological Concern assessment. June 2011.

■食品安全研究会

食品リスク評価の新しい潮流～ 曝露マージン (MOE) アプローチ

藤井 健吉*

1. はじめに

食品のリスク評価において最も困難な課題のひとつに、食品中に非意図的に含まれる遺伝毒性発がん物質のリスクをどう扱うか、という問題がある。非意図的な食品成分とは、食品添加物のような制御可能な食品成分と対比するカテゴリーであり、例えば野菜や穀物、食肉などが天然物として元々含有する成分、調理の際の加熱により副次的に生成してしまう成分、カビ毒のような品質管理で制御される成分、製造過程で非意図的に発生してしまう未知微量成分、などを指す。本報では、この食品リスク課題に関連して、国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) の食品リスク研究部会において 2010 年から 2011 年にかけて調査された「遺伝毒性発がん物質のリスク評価：MOE アプローチ」の成果概要を報告する。

MOE (Margin of Exposure, 曝露マージン) アプローチは比較的新しいリスク評価手法であり、“食品中の遺伝毒性発がん物質が、消費者のヒト健康影響に対してどの程度の懸念を有するかを、比較可能な形で定量化してリスク管理者に助言するための新しいリスク評価手法”と特徴付けられる。MOE アプローチのリスク評価指標としての特徴は、不確実性の回避とリスクの相対化にあり、リスク比較指標やリスク低減化指標としてリスク管理やリスクコミュニケーションに実践的に活用されることが期待されている。

2000 年代後半、リスク評価の専門家の科学的提言に基づき、リスク評価機関における MOE アプローチの採用が進んだ。具体的には、EU の食品リスク評価機関である EFSA (The European Food Safety Authority, 欧州食品安全機関)、ならびに国連の専門機関である FAO

(国連食糧農業機関) と WHO (世界保健機関) が合同で運営するリスク評価機関の JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議) において、食品汚染物質 (発がん物質) のリスク評価指標として MOE アプローチが採用された (EFSA 2005, FAO/WHO 2005, 2006, 2007, 2008a, b)。また、このようなリスク評価機関の動きに連動して、国連の食品リスク管理機関である The Codex Alimentarius Commission (コーデックス委員会) においても、食品汚染物質の管理における MOE アプローチの運用方法に関する検討が進められている (CCCF 2011)。

2. MOE アプローチの開発・運用の経緯

MOE アプローチ開発の背景の一つに、2000 年代初頭の食品由来のアクリルアミド曝露の発見が挙げられる。事の発端は、スウェーデンで 1997 年のトンネル修繕工事における環境汚染事故の追跡調査として実施された工事作業員のアクリルアミドの職業曝露の調査であった。予想に反して非曝露の対照者においても血中にアクリルアミド曝露の痕跡となるヘモグロビン-アダクト (アクリルアミド付加体) が検出された。これは、体内に吸収されたアクリルアミドがエポキシ化されヘモグロビンに共有結合した痕跡であり、アクリルアミドの長期間の平均曝露を示す曝露マーカーである。この検討の際に対照群にもアクリルアミド曝露が認められたことを契機に、特定の職業曝露ではなく一般の食事由来でアクリルアミド曝露があることが発見された。こうして日常的な

*花王株式会社 安全性評価研究所

食事にアクリルアミドが非意図的に含まれたことが顕在化したのであった。アクリルアミドは遺伝毒性と発がん性を有するため、この曝露に由来するヒト健康リスクを管理し低減していくことが重要と思われた。同時に、アクリルアミドのように非意図的な含有であり、かつ加熱により増加するような成分の曝露をどのように管理するかは、食品リスク管理における新しい課題であり、リスク評価・リスク管理の両面から従来のアプローチに替わる新しいアプローチが必要であると考えられた。

この時代背景の中で、2002 年より、ILSI Europe タスクフォース (ILSI Europe Task Force on Risk Assessment of Genotoxic Carcinogens in Food) では、食品中の遺伝毒性発がん物質に対するリスク評価手法の開発が試みられた (表 1)。従来の発がんリスク評価法の課題であった「リスク定量化における不確実性の大きさ」を回避する手法が必要とされていた。結果、発がんリスク評価における不確実性を回避する新しい手法として MOE アプローチが見出され、詳細な検討が開始された (O'Brien 2006, ILSI 2008)。MOE アプローチは、引き続いて JECFA と EFSA においても検討された。JECFA は 2005 年 2 月の第 64 回会議において、遺伝毒性発がん物質のリスク評価に関する一般的考察を提案した。この時にモデル題材となったのは、遺伝毒性発がん物質として知られている三つの食品中成分 (アクリルアミド、カルバミン酸エチル、多環芳香族炭化水素) のリスク評価であった (FAO/WHO, 2005)。JECFA は「遺伝毒性発がん物質は、非線形の用量・反応関係を示すかも知れないが、発がん性試験における NOAEL (no observed adverse effect level) は、考えられる閾値についての推定値ではなく、そのバイオアッセイにおける検出限界を示している可能性を否定できない」とした。遺伝毒性発がん物質の閾値は、前がん病変や関連マーカーを指標とした毒性試験、ならびに DNA 修復能の機構などの科学的知見からその存在が示唆されているが (福島ら 2005)、物質ごとの詳細な試験を必要とするためリスク評価に閾値を根拠とした指針値 (health-based guidance value) を設定するアプローチは選択されなかった。

従来、発がんリスクに対するリスク管理は、曝露量は合理的に達成し得るかぎり低く (As Low As Reasonably Achievable: ALARA) 低減されるべきと勧告することを原則としていた。しかしながら、この ALARA の助言は、リスク評価としてはハザードの有無のみから判断

表 1 MOE アプローチの発展経緯
Table 1 Development of MOE approach

“Timeline”	
2002.	ILSI Europe Task Force on Risk Assessment of Genotox Carcinogens in Food .
2005.	JECFA 64 th
2005.	EFSA, Guidance on risk assessment of compounds that are genotoxic and carcinogenic.
2005.	EFSA/JECFA/ILSI conference
2008.	ILSI Europe Workshop.
2009.	WHO/IPCS. Guidance document of exposure assessment.
2010.	ILSI Europe. MOE approach of 12 samples.
2011.	CODEX CCCF ^{5th} .

され、ヒトの曝露量と発がん性の用量反応性のいずれをも考慮に入れるものではなく、定量的なリスク評価を情報として含まない。そのため、ハザードベースのリスク評価と ALARA を示唆する助言は、リスク管理を実施する際の判断材料としては限られた価値しか持たないという点が指摘された。アクリルアミド曝露のように今後新たに発見される食品安全の課題に対するリスク管理のあり方としては、リスクの大きさ (緊急性や規模、コスト) を考慮して優先順位付けをしながら、リスク低減化政策を実施することが重要である。リスク評価には、優先順位付けのための定量的な判断根拠を含むリスク評価アプローチが望まれた。JECFA は ALARA アプローチに代わる 3 つの主なアプローチに言及した:

- 発がん性が観察された用量範囲上の PoD (Point of Departure) と、ヒトにおける食物経由の推定曝露量との間の MOE (Margin of Exposure) の算定
- 定められたリスク推定値に関係する用量への低用量外挿
- 観察された用量範囲上の PoD からの線形外挿

これらの 3 つのアプローチの中で、JECFA は、MOE が最も現実的で有用な選択肢であると結論した (FAO/WHO, 2005)。理由として、低用量外挿法や線形外挿法と比較し不確実性が小さく、リスクの大きさの情報を含み、既存のアプローチからの置き換えが比較的容易であ

ることなどが挙げられた。同様に EFSA は、MOE の大きさは優先順位設定のためにリスク管理者によって用いられ得る、それゆえ曝露量を ALARA まで低減されるべきと助言するよりは有益であると結論した (EFSA, 2005)。

その後、WHO と EFSA は、ILSI Europe の支援を得て、“遺伝毒性と発がん性を有する化合物のリスクアセスメント：新しいアプローチ”に関する国際会議を 2005 年 11 月に開催した。この会議は、食品由来の遺伝毒性発がん物質の曝露リスクについての (1) リスクアセスメントのアプローチ、(2) このようなアプローチの結果の解釈のあり方、(3) このようなアプローチがリスク管理者のニーズに応えるものであるかどうか、が取り扱われた (Barlow 2006)。

最近の動向では、ILSI Europe が WHO/IPCS、EFSA と協力して MOE 算出法の標準化を試み、アクリルアミドやアフラトキシン B₁、ベンゼンなど食品中の遺伝毒性発がん性物質として知られる 12 化合物をモデルケースとして MOE による評価を行った (Benford 2010)。これらの専門家会議および国際評価機関からの提言を踏まえ、2010 年頃より Codex の汚染物質部会においても、MOE アプローチの採用が検討されている状況である (CCCF 2011)。

3. MOE アプローチの全体像

(1) PoD の選択 (ベンチマークドーズ法による BMD₁₀ 算出)

MOE は無毒性量 (NOAEL) あるいは重要な毒性に対するベンチマークドーズ信頼下限値 (BMDL) と、理論上あるいは予測、推定された曝露量・濃度との比率と定義されている (WHO/IPCS 2009)。遺伝毒性発がん物質の場合は、一部のモデル化合物で科学的には閾値が示唆されており興味深い (福島ら 2005)、NOAEL の確認には困難が伴い、リスクが懸念される多様な化合物に対して NOAEL を前提としたリスク評価アプローチは現実的ではない。それゆえ発がんリスクに対する MOE は分子に NOAEL は用いず、代わりに実験的あるいは疫学的調査から得られた用量反応関係に基づいた PoD (reference point としても知られている) が用いられる (図 1)。EFSA/WHO/ILSI 会議の参加者はベンチマークドーズ (BMD) アプローチは観察された用量反応範囲において適切な PoD を導き出すために最善のツールとなることに同意した (Balow 2006、EFSA 2009)。低い測定可能な反応 (benchmark response すなわち BMR) を引き起こす用量 BMD、さらに BMD の 95% 信頼下限値である BMDL が求められるが、この

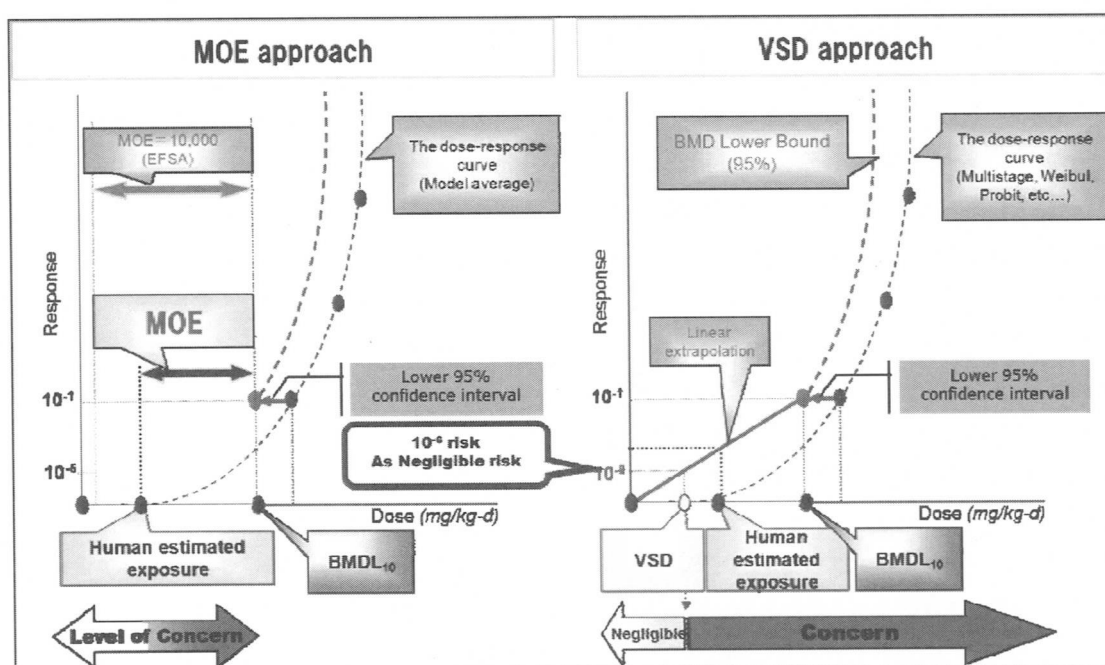


図1 MOEアプローチと低用量外挿アプローチ
Figure 1 MOE approach and VSD approach

BMDL はデータの不確実性に適応するために、最も適切な PoD であると見なされた (Barlow 2006)。さらに、BMR の値としては、10% が 5% より好ましいと判断された。これは、現行のガイドラインに準拠した発がん性試験 (GLP) の群規模 (n=50) に応じた検出限界 = 10% (統計的有意差 $p < 0.05$ に拠る) に対応することに拠る (Williams 2008)。また、低い % の反応のモデル化は一般的に、より大きな不確実性を生じさせることが考慮された。一方、BMDL₁₀ を誘導するにはデータが不十分である場合には、T25 を用いることが好ましい選択肢であるとされた (Barlow 2006)。T25 は、自然発生率に関して補正した後、ある特定の腫瘍部位において動物の 25% に、その動物種の標準的な生涯時間内に腫瘍を誘発するであろう慢性用量についての推定値 (自然発生率に関しては補正を行う) である (Sanner 2001)。

(2) ヒト推定曝露量

ヒトの食物経由の曝露量についての様々な推定値は、リスク管理者に様々な情報を提供する。例えば、平均曝露量は一般的な状況を示す一方で、摂取者の 90, 95 もしくは 97.5 パーセンタイルによる曝露量は、高摂取量者についての情報を提供する。MOE は単に比であるので、異なる MOE 値が、異なるパーセンタイル曝露量に関して推定され得る。つまり、MOE は多様な食生活に由来する食品摂取量の幅に応じて、単一の値ではなく幅を持った値となる。この点を考慮し、通常、MOE アプローチでは MOE (average exposure) と MOE (high exposure) の 2 値が併記されることが多い。また、MOE が示すリスクレンジが現実的なものとなるためには、適切な食品摂取の推定曝露評価が重要となる (図 2)。

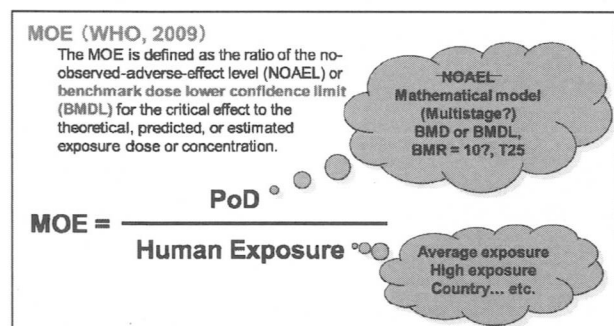


図 2 曝露マージン (BMDL₁₀ とヒト推定曝露量)
Figure 2 Margin of Exposure (BMDL₁₀ and Human exposure)

(3) MOE アプローチの特徴

遺伝毒性を有し、かつ発がん性である物質に関する MOE アプローチの適用対象としては、「個々の物質と曝露」のほか「化学物質のクラスと集合的曝露」も想定されている。

MOE アプローチの特徴は、食物経由の曝露量と、用量反応相関から導かれる毒性ポテンシャルの双方を MOE 値に内包する点にある。したがって、基準値などに用いられる他のリスク評価指標と異なり、MOE の大きさは、懸念レベルの大きさ (the level of concern) を直接示している。もう一つの特徴は、観察された用量範囲を超える外挿もしくは不確かなリスク推定値の作成を行っていないため、定量的リスク評価にともなう低用量外挿の不確実性を回避できている点である (Barlow 2006, ILSI 2008, Benford 2010a)。MOE 値はリスクについての精緻な定量化ではないが、MOE が大きければ大きいほど、検討している化合物に対する曝露によって呈される潜在的なリスクは小さいと判断することが可能となる。EFSA/WHO/ILSI 会議は、MOE アプローチは、それによりリスクマネジメント措置に関する優先化を裏付けるための化合物間の比較が可能になるという理由で、遺伝毒性発がん物質のリスクアセスメントのための有益な、そして実用的な選択肢であると結論した (Barlow 2006)。

(4) MOE アプローチの適用

EFSA の科学委員会 (EFSA Scientific Committee) は、10,000 以上の MOE 値は、動物を用いた発がん性試験データをベースに、“公衆衛生の観点からは心配は少ないであろうと思われる、そしてリスクマネジメント措置に関して優先順位は低いと合理的に見なされるかも知れないであろう” との見解を出している (EFSA 2005)。しかしながら MOE=10,000 という判断基準を提示しているのは 2011 年までの時点では EFSA のみであり、MOE を安全基準との比較で判断する方法は、未だ確立されていない状況といえる。とはいえ、現行でも類似の発がんリスク同士の MOE 値相対比較による優先順位付けは実施可能である。JECFA が公表するアクリルアミド等の MOE アプローチによるリスク評価報告は、各国のリスク管理機関でリスク管理やリスク低減化の根拠として実際に活用されている。

EFSA/WHO/ILSI 会議は、問題となるレベル (level of concern) を MOE の特定の値もしくは範囲に割り当てるべきかどうか、およびどのように割り当てるべきか

に関しては、今後さらに検討する必要がある、最終的にはリスク管理者の判断であると、結論している (Barlow 2006)。MOE はリスク比較指標として用いられるが、特に毒性発現の作用機序が類似の物質間を比較する場合は、科学的に妥当な比較が可能と判断された (Benford 2010a)。具体例としては、エポキシサイド形成による DNA 損傷という発がん作用機序が共通する化合物群 (アクリルアミド、アフラトキシン B₁、グリシドールなど) に対する MOE 比較、などが想定される。一方、リスク管理者が、様々な化学物質に由来する同じような MOEs は、同じ大きさのリスクを必ずしも表すものではないことを認識することも重要である (Barlow 2006, Benford 2010a)。これは、発がんポテンシャルと曝露量のデータの質に由来する不確実性が異なるためであり、また発がん物質が異なれば、用量・反応曲線の形状が異なる可能性があるためである。

4. MOE フレームワーク

MOE アプローチの運用妥当性を確立するために、2005 年以降さらなる検討が進められた。モデル課題として、公衆衛生問題に関連して MOE の解釈と適切性についてさらに理解する目的で、食品中の汚染物質として検出された多数の様々な遺伝毒性発がん物質に関する研究が進められ、その成果が 2010 年 3 月に Benford らにより 12 の事例研究として報告された (Benford 2010a, 2010b)。12 物質には、アクリルアミド、アフラトキシン B₁、メチルオイゲノール、フラン、PAHs、BaP、カルバミン酸エチル、PhIP、1,3-ジクロロ-2-プロパノール、ロコマラカイトグリーン、ベンゼン、1MCP 不純物、スタン I が選抜され MOE 評価が試行された (図 3)。検討課題として、食品中の遺伝毒性発がん物質に対する MOE アプローチの適用妥当性、および物質ごとのリスクの MOEs を用いたカテゴリー分類 (ヒト健康への懸念の大きさに応じたクラス分類) の可能性が検証された。結果として、いくつかの MOEs が、同じ物質に対して、異なる曝露シナリオや、人口母集団の異なるグループに関して算定され得ること、BMDLs が様々な腫瘍タイプに関して導出される結果となった。まとめとして 12 化合物の MOE 検討から導かれた MOE 導出のためのフレームワークが提案された (Benford 2010a)。

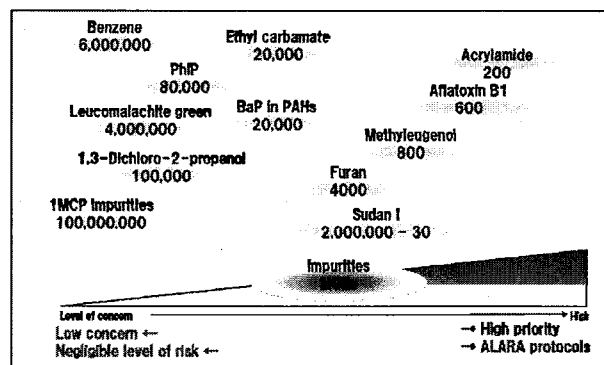


図 3 MOE 比較によるリスク管理の優先順位付け
Figure 3 Comparison of MOE for risk prioritization

5. まとめと提言

以上、2010 年度、ILSI Japan 食品リスク研究部会では、MOE アプローチの国際動向を調査し、その価値や特徴、活用の展望について検討を行った。その調査に関する成果物は ILSI Japan のホームページ上で公開した (ILSI Japan 食品リスク研究部会 2011a, b, c, d)。MOE アプローチは、食品中汚染物質の遺伝毒性発がんリスクを相対比較可能にしたことにより、リスク管理の際の優先順位決定の裏付けに使用することができる。またヒト健康への懸念の大きさを相対的に比較できるため、食品の発がんリスクのリスクコミュニケーションにも活用できる可能性がある。図 3 に示した MOE を用いたリスク比較は、ISO 31000 にて提案されたカテゴリーアプローチによる Risk prioritization map と類似スキームによるリスク管理法に発展可能であると考えられる (図 3、図 4)。一方、MOE 算出に用いられる PoD と推定曝露量には不確実性が存在し、採用するデータによって MOE が大きく異なる値が導き出されるため、慎重に取り扱う必要がある。MOE は幅を持つ値であるが、これは本来、集団のリスクが多様性に由来する幅を持つことに対応するものである。MOE アプローチの結果が信頼に値し、リスク管理者に有用であるためには、データの不確実性 (発がんなどのエンドポイントの選択、データの解析手法、曝露シナリオ等) を MOE 値とともに明確に記述し、妥当性を示すことが必須である。

発がんリスクは自然界に元来からあるものであり、社会がどのようにリスク管理をしていくべきかは時代の変遷と共に変貌していくものと思われる。今後、食品安全に関する現代の科学的知見を踏まえて MOE アプローチ

Impact	Risk Management Actions		
Significant	Considerable management required	Must manage and monitor risks	Extensive management essential
Moderate	Risks may be worth accepting with monitoring	Management effort worthwhile	Management effort required
Minor	Accept risks	Accept, but monitor risks	Manage and monitor risks
	Low	Medium	High
	Likelihood		

図 4 リスク管理の優先順位付けマップ (ISO31000 モデルによる)

Figure 4 Risk prioritization map (ISO 31000)

が実用的かつ適切に運用されるためには、リスク評価者とリスク管理者、リスクコミュニケーターの理解共有が重要である。

6. 謝辞

本調査研究を進めるにあたり、ILSI Europe 事務局長の Dr. Nico van Belzen 氏に MOE アプローチ文献 (Benford 2010) の日本語翻訳の御許可をいただいた。また、国立医薬品食品衛生研究所の広瀬明彦博士にリスク評価の用語集 (ILSI Japan 食品リスク研究部会 2011c, d) を御監修いただいた。東京大学の松尾真紀子氏、井関法子氏およびイカルス・ジャパンの武居綾子博士には、Codex など海外機関の最新動向に関しご示唆をいただいた。2008～2011 年に催した ILSI Japan 毒性学教育講座の講師陣には、毒性学に立脚するリスク評価の考え方について体系的にご教授いただいた。ILSI Japan 事務局の篠原久実博士、米久保明得博士、末木一夫博士、岩田修二博士、山口隆司博士には食品リスク研究部会の運営をサポートしていただいた。以上の皆様に、厚く御礼を申し上げたい。

<参考文献>

Barlow, S., *et al.*, *Food Chem Toxicol* 44, 1636-1650. 2006

Benford, D., *et al.*, *Food Chem Toxicol* 48 Suppl 1, S2-S24. 2010a

Benford, D., *et al.*, *Food Chem Toxicol* 48 Suppl 1, S34-41. 2010b

CCCF, Report of the Fifth session of the CODEX COMMITTEE on Contaminants in Foods. REP11/CF, (CX/CF11/5/11) 2011

EFSA, Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a harmonized approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic. 2005

EFSA, *EFSA Journal* 1150, 40-47. 2009

FAO/WHO, Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Sixty-fourth meeting, Rome, 8-17 February 2005. Summary and conclusions. 2005

FAO/WHO, WHO Food Additive Report Series, No. 55. 2006

FAO/WHO, WHO Food Additive Report Series, No 58. 2007

FAO/WHO, WHO Food Additive Report Series, No 59. 2008a

FAO/WHO, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 69th meeting, Summary and conclusions. 2008b

福島昭治ら. 化学生物総合管理 1 (1) pp10-17. 2005

ILSI Europe, Application of the Margin of Exposure approach to compounds in food which are both genotoxic and carcinogenic. 2009

ILSI Japan 食品リスク研究部会 藤井, 坂間, 堀, イルシー 104. p45-53. 2011a

ILSI Japan 食品リスク研究部会, イルシー 105. p28-32. 2011b

ILSI Japan 食品リスク研究部会, 「リスクアセスメントで用いる用語の説明」. 2011c. http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/TF/sr/110512_yougo.pdf

ILSI Japan 食品リスク研究部会, 「リスク評価指標一

覧」. 2011d. http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/TF/sr/110512_besshi1.pdf

O'Brien, J., *et al.*, *Food Chem Toxicol* 44, 1613-1635. 2006

Rosen, J., *et al.*, *Analyst*, 127, 880-882. 2002

Tareke, E., *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4998–5006.
2002

Sanner, T., *et al.*, *Pharmacol Toxicol* 88, 331–341. 2001

WHO/IPCS, Guidance document on characterizing
and communicating uncertainty in exposure
assessment. 2008

WHO/IPCS, Environmental Health Criteria 239:
Principles for modeling dose–response for the risk
assessment of chemicals. 2009

Williams, G.M., *et al.* *Principles and Methods of
Toxicology*. Taylor & Francis, Philadelphia, PA, pp.
1265–1316. 2008

■健康推進協力センター

ILSI Japan CHP の社会貢献活動

戸上 貴司*

1. ILSI Japan CHP とは

ILSI Japan CHP は、内外の公衆衛生に関わる社会貢献活動を実施する団体として、2001 年に ILSI Japan 内に設置された。本組織は、栄養、健康、公衆衛生、環境に関わる課題について、科学に基づく研究と調査を通じて、人々の健康増進に寄与している。本組織は、産官学の協調を基に、その地域における実践可能な問題解決法を開発し、実践している。ILSI Japan CHP は、現在 3 つのプロジェクトを行っている (図 1)。それは、Project PAN (Physical Activity and Nutrition)、Project IDEA (Iron Deficiency Elimination Action)、Project SWAN (Safe Water and Nutrition) である。それぞれのプロジェクトについて、次に概略する。



図 1 ILSI Japan CHP の活動
Figure 1 ILSI Japan CHP

2. Project PAN

適度な運動と良い食習慣は、健康に齢を重ねるために

最も重要な要素である。Project PAN では 2 つのアプローチを行なっている。一つは職域におけるハイリスクアプローチ、LiSM 10!® (Lifestyle Modification 10) であり、個々人のカウンセリングに基づくヘルスプロモーションプログラムを開発した。他の一つは高齢者を対象にしたポピュレーションアプローチ、TAKE 10!® である。このプログラムは、高齢者の介護予防を目的とした包括的でかつ継続性のある教育プログラムを開発である。

厚生労働省は、メタボリックシンドローム予防の健康戦略として、健康保健組合にその対策を実施するよう指導している。LiSM 10!® プログラムは、この対策に合致するよう設計され、科学的に有効であることが証明されている¹⁻³⁾。このプログラムのプロセスは図 2 に示されている。このプログラムの特徴は、参加者が自ら運動と食事の目標を決め宣言書で意思表示すること、自ら結果をモニターし記録すること、定期的なカウンセラーによる指導は、強制ではなく支援を重視することである。カウンセラーによる指導は、面談でもインターネットでも可能である。ニチレイフーズ株式会社による介入試験の 6 か月後の結果を図 3 に示す。LiSM 10!® グループは 14 の指標で顕著な改善が見られ、コントロールグループと比較すると 7 指標で顕著な改善が示された。

TAKE 10!® プログラムでは、高齢者が自重を使った 10 分間の運動を一日に 2~3 回行うこと、10 種類の食品群をできるだけ摂取して、バランスの取れた食生活を続けることを推奨している。2003 年に一年間、秋田県南外村で 1,400 人の高齢者を対象に介入した試験が行なわれ、その結果、参加者の歩行速度が維持され、日常的に運動習慣が維持されるようになった。また、食習慣の改善による栄養改善が顕著に見られた⁴⁾。また、活動を持

* ILSI Japan CHP (健康推進協力センター) 代表

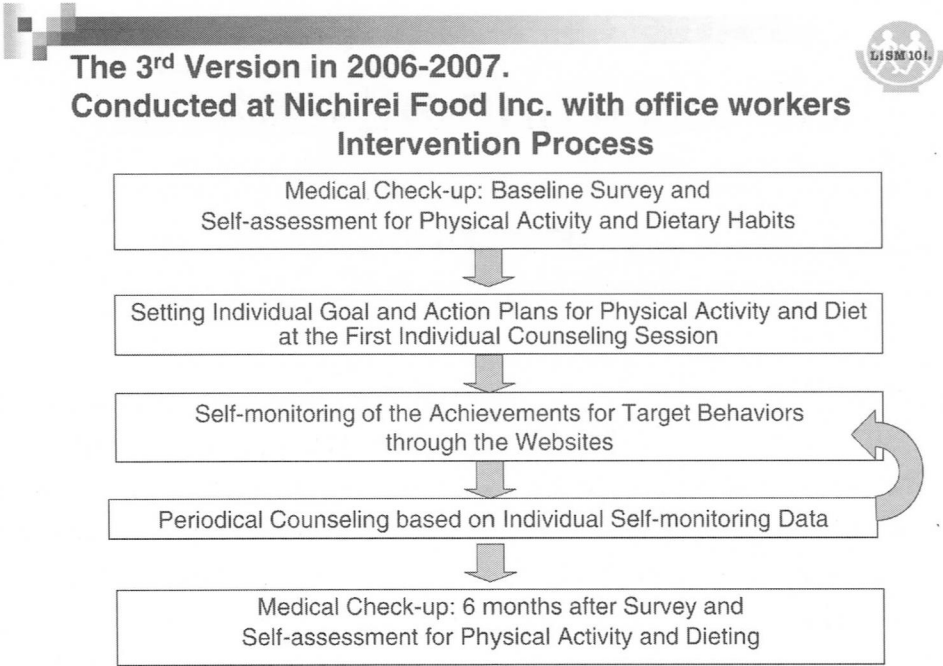
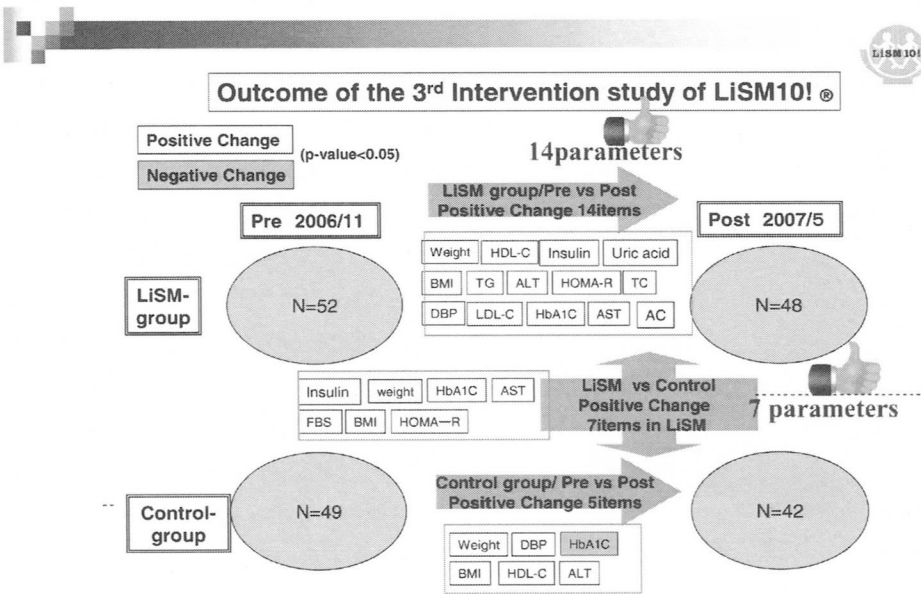


図 2 2006-2007 年の LiSM10!® 第 3 期プログラム
Figure 2 The 3rd version in 2006-2007



Chizuko Maruyama *et al.*, Effect of a worksite-based intervention program on metabolic parameters in middle-aged male white-collar workers: A randomized controlled trial. *Preventive Medicine* 51 (2010) 11-17

図 3 LiSM10!® 第 3 期の試験結果
Figure 3 Outcome of the 3rd intervention study of LiSM10!®

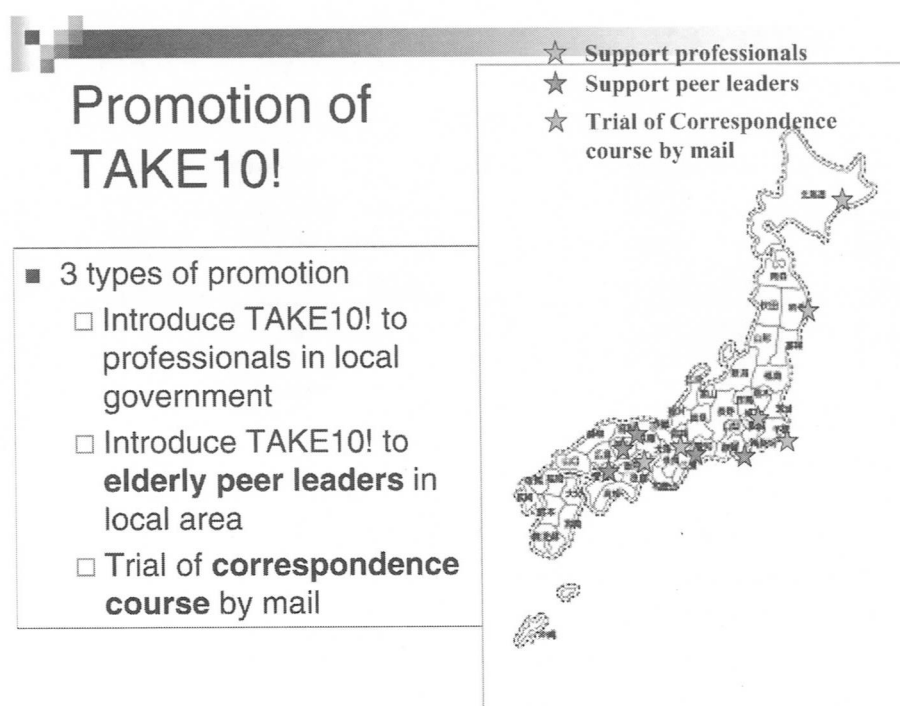


図 4 TAKE10!® の展開状況
Figure 4 Promotion of TAKE10!®

続するための多種の教育・啓発材料、例えば指導者用マニュアル、冊子 DVD 等を開発した。図 4 に示されているように、現在、地方行政やシルバー人材センター等の民間団体と共に、TAKE 10!® 普及活動を進めている。

3. Project IDEA

国連の報告書によると、未だに 35 億人の人々が鉄欠乏性貧血症（Iron Deficiency Anemia; IDA）に罹患している。鉄欠乏症は他の微量栄養素に比べて改善の難しい公衆衛生上の課題である。Project IDEA は、開発途上国で日常摂取している食材、例えば主食、調味料に適当な鉄剤を強化することによって、IDA の罹患を改善しようと努力している。このプロジェクトは、過去 10 年以上続いており、すでに中国では、醤油にキレート鉄を添加した鉄強化醤油が全国的に導入されているほか、ベトナムでは、魚醤に同様の鉄剤が強化され導入されている。現在、カンボジアで魚醤と醤油をキレート鉄で強化する方策が、フィリピンでは炊飯米に鉄強化する研究が、ベトナムでは同様な鉄強化米の研究が進んでいる。

ここでは、現在進行中のプログラムを簡単に紹介する。食品の鉄強化の開発、導入プロセスは、研究段階と実

施段階に大きく分けられる。研究段階は実験室における開発、例えば強化の処方、安定性、体吸収性、受容性等が最初に行なわれる。次いで現場での開発、例えば実証、実効介入試験、製造、QA、啓発、教育、評価等を行なわなければならない。開発が終了して実施段階に進むことができる。最初に国としての法整備から始まり、通常の産業界での新製品導入と同じ製造、物流、販売、啓発等の活動が行なわれる。ここで 2 つの事例を紹介する。

カンボジアでは貧血症が深刻な公衆衛生上の課題である。例えば 5～14 歳の児童の貧血症は 63% にのぼる。2005 年に現地の NGO RACHA（Reproductive and Child Health Alliance）と共同で魚醤と醤油の鉄強化を目指してプロジェクトを開始した。学童を対象にした 6 か月の実証介入試験の結果、顕著な改善が示された⁵⁾。引き続き、2007 年に Kampot と Siem Riap の 2 か所で鉄強化製品をマーケットに導入して、2 年に亘る実効試験を開始した。その結果、図 5 に示されているように、鉄強化魚醤、醤油は貧血症を改善するために有効であることが示された。カンボジア政府はこの結果に基づき、全国展開を 2012 年初頭から始めることを決定した。

フィリピンでは未だ貧血症は大きな公衆衛生上の問題であり、主食の米の鉄強化を研究してきた。ILSI Japan CHP はフィリピンの FNRI（Food Nutrition Research

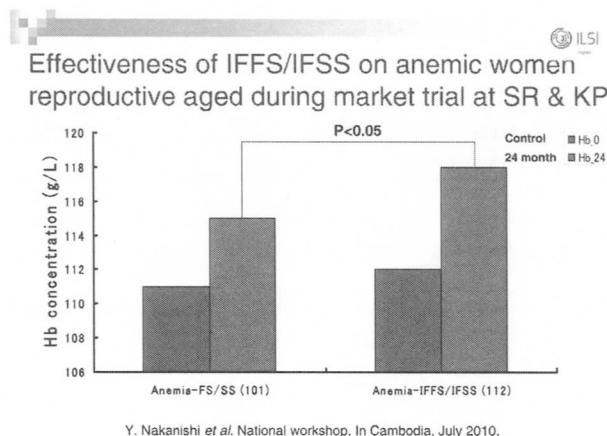


図 5 鉄強化魚醬／醤油のマーケットトライアルでの貧血女性への効果

Figure 5 Effectiveness of IFFS/IFSS on anemic women reproductive aged during market trial at SR & KP

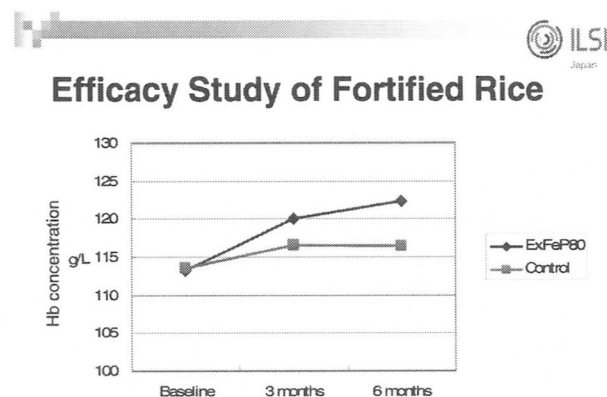


図 6 鉄強化米の実証試験結果

Figure 6 Efficacy Study of Fortified Rice

Institute) と共同で米の鉄強化を研究してきた。基礎研究の結果、日本で開発された微細ピロリン酸鉄がこの強化には適していることが判り、この鉄剤で擬似米 (Premix) を製造し 通常米と混合することにした。学童を対象に実証試験を行い、図 6 の通り、この強化米が貧血の改善に有効であることを示した⁶⁾。引き続き、2008～2009 年に Orion 行政区のマーケットにこの強化米を導入し、貧血症改善の実効性と啓発、教育プログラムの有効性を検討した。その結果、対象の 6～9 歳の学童と女性のグループについて貧血症が改善することが証明された。また、開発された啓発、教育プログラムが今後の導入で有効であることが示された。現在、フィリピン政府はこの強化法を導入すべく検討中である。

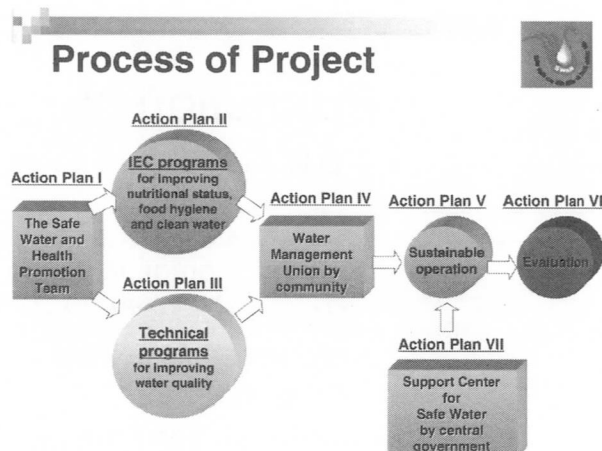


図 7 プロジェクトの工程

Figure 7 Process of Project

4. Project SWAN

WHO の報告によると、安全な飲料水の供給を受けられない人の数は世界で 11 億人に上るといわれている。多くの途上国において、不衛生な水の摂取や保健衛生環境の不備は、特に子供が下痢や感染症を繰り返す要因になっている。Project SWAN (Safe Water and Nutrition) は、JICA の草の根技術協力プロジェクトとして、ヴェトナムの NIN (National Institute of Nutrition) と共同で実施している。このプロジェクトでは安全な水を確保するために、1) 住民が水、栄養、保健衛生に関する知識を得て家庭レベルで実践する。2) 水処理施設の運転を最適化し、安全な水を供給するという、双方の視点から活動を進める。さらに、3) 持続的な活動の仕組みづくりから評価に至るまで、コミュニティーベースで、継続的な水供給システムを作り上げることを目指す。ヴェトナムの北部の 3 か所のコミュニティーで、技術グループと IEC グループ (啓発、教育グループ) が相互に協力して活動を進めてきた。2005 年から 2008 年にわたり、図 7 にあるプロセスでプロジェクトを進めた結果、例えば、図 8 にあるように子供の下痢の罹患率が大幅に改善された。また、図 9 にあるように、水処理施設の能力も水質のみならず供給量、効率も大幅に改善された⁷⁾。2010 年から開始したフェーズ 2 では、中央政府レベルにワーキングチーム、地方政府にサポートチームを設置し、分野横断的な連携を強化し、ヴェトナムの専門家が自らフェーズ 1 と同様な結果を得るべく、16 か所のコミュニティーで活動が進んでいる。

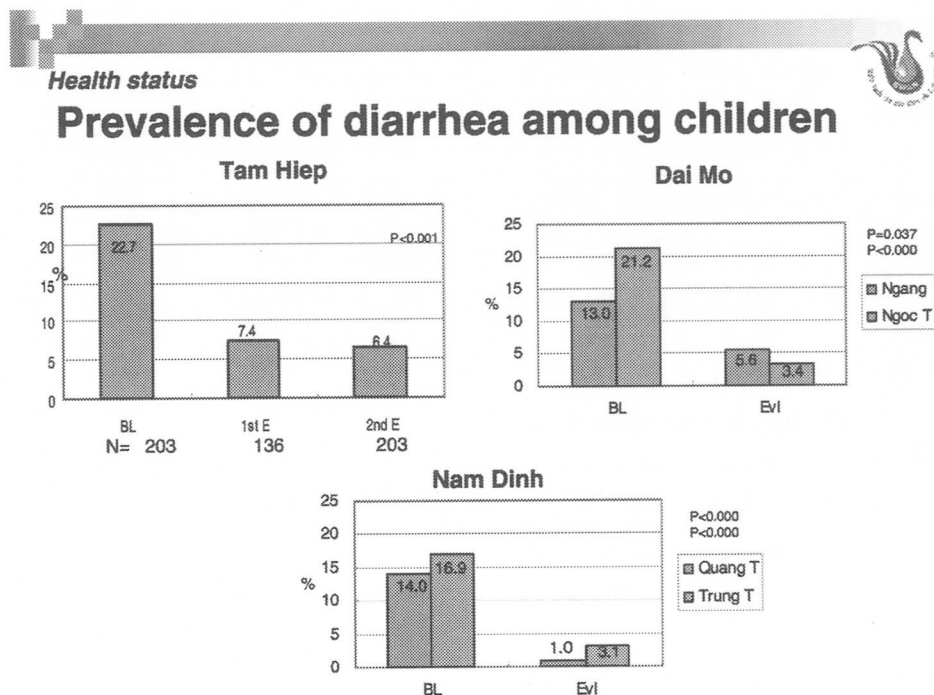


図 8 子供の下痢の罹患率の低下
Figure 8 Prevalence of diarrhea among children

Tam Hiep Commune – Results Improvements in Technical program

Water distribution	BL (Feb '06)	1 st evaluation (Jun '07)	2 nd evaluation (Aug '08)
No. of total HH in the village	979	993	1,183
No. of HHs received water	638	721	890
Water volume (L/capita/day)	32	52	55
Cost of treated water (VND/m ³)	2,500	2,500	2,500
Rate of water loss (%)	54.1	48.8	46.9
Penalty against water theft	None	Under discussion	Applied

図 9 Tam Hiep コミュニンの水処理設備の改善
Figure 9 Tam Hiep Commune – Results Improvements in Technical program

5. 終わりに

ILSI Japan CHP が、2001 年に設立されて以来、10 年が経過しました。ILSI 会員の皆様、外務省、JICA、農林水産省、日本財団等の国内のご支援、また、GAIN、UNICEF 等の国際的団体のご支援も得て、3つのプロジェクトは、それぞれ実績を上げております。改めて、ご支援戴いている企業、団体に感謝申し上げます。プロジェクトに関わる科学的成果も国内外で 10 報以上に上がっ

ております。

更なる活動を続けて、リスク者の救済に役立つ社会貢献を行ってまいります。今後とも皆様方からのご支援をお願いすると共に、これらの活動に、是非とも会員企業の皆様をご参加頂きますようお願い申し上げます。

<参考文献>

- 1) Takashi Arai, Yukiko Oida, Chizuko Maruyama, Takashi Muto, Satoru Sawada, Hiroe Matsuzuki, Yukiko Nakanishi: Impact of Life style intervention on physical activity and diet of Japanese workers. *Preventive Medicine* 45 (2007) 146-152
- 2) Ken'ichi Egawa, Takashi Arai, Takashi Muto, Yukio Oida, Susumu Sawada, Chizuko Maruyama, Hiroe Matsuzuki, Ai Moriyasu, Kumiko Takanashi: Effect of a convenience intervention program for lifestyle modification in physical activity and nutrition (LiSM10!) in middle-aged male office workers: A randomized controlled trial. *International Congress Series Volume 1294, June 2006, 119-122*
- 3) Chizuko Maruyama, Kimura M, Okumura H, Hayashi K, Arai T: Effect of a worksite-based

intervention program on metabolic parameters in middle-aged male white-collar workers: A randomized controlled trial. *Preventive Medicine* 51 (2010) 11-17

- 4) 熊谷修 : 自立高齢者の介護予防をめざして-高齢者の運動と食生活に関する複合プログラム Take10!® を用いた地域介入の効果の評価-. イルシー、81(2005); 55-68
- 5) Philippe Longfils, Didier Monchy, Heike Weinheimer, Visith Chavasit, Yukiko Nakanishi and Klaus Schümann : A comparative intervention trial on fish sauce fortified with NaFe-EDTA and FeSO4+citrate in iron deficiency anemic school children in Kampot, Cambodia. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008; 17(2):250-7
- 6) Angeles-Agdeppa Imelda, Capanzana Mario V, Barba Corazon V. C, Florentino Rodolfo F, TAKANASHI Kumiko : Efficacy of iron fortified rice in reducing anemia among schoolchildren in the Philippines. *Int. J. Vitamin and Nutrition Research* 2008; 78(2) 74-86.
- 7) Project SWAN-Safe Water and Nutrition-A community-based participatory approach in Vietnam
http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/CHP/Project%20SWAN_Final%20Report_Email%20Distribution.pdf

フラッシュ・レポート

第6回「栄養とエイジング」国際会議参加報告

株式会社明治
食機能科学研究所

金子 哲夫

ILSI Japan は今年 30 周年を迎え、その記念イベントの一環として第 6 回「栄養とエイジング」国際会議が 9 月 28 日、29 日の 2 日間にわたり、東京大学一条ホールで開催された。今回の国際シンポジウムでは、“超高齢化社会のウェルネス—食糧供給から食行動まで—”という副題が掲げられた。超高齢化社会の社会的側面のトピックスで幕を開け、続いて、食文化と疾病構造、栄養と身体活動・脳機能など、栄養とエイジングに関わる多様な話題が発表され、議論された。海外招聘講演が 6 題、国内招聘講演は特別講演を含め 14 題にのぼった。

また、続く 30 日には、東京大学寄付口座「機能性食品ゲノミクス」＜栄養とアンチエイジングゲノミクスによる科学的検証＞と ILSI Japan 研究会・部会の研究活動成果が、招聘講演と併せて報告された。3 日間を通してポスターセッションも企画され、発表は昼食時を利用して行われた。

終日タイトなスケジュールのシンポジウムとなり、内容を少々欲張りすぎた感はあるものの、総勢 230 名の参加者が得られた。3 月 11 日に起きた東日本大震災で直面したことをきっかけに栄養・食糧の重要性が改めて認識されたこともあり、シンポジウムへの関心と期待の大きさがうかがわれた。

1 日目の会議終了後には会場のスペースを利用して懇親会が盛大に行われた。縦長のスペースの中央に食べ物が用意され、その両側を移動するにも人をかき分けなければならないほどに手狭ではあったが、その分、否が応でも会話しなければならない状況が生まれ、有意義なひとときを提供する場となった。

プログラム

<第1日目> 9月28日(水)

【基調講演】「超高齢化社会の課題」

「高齢期の生活を豊かにする食の多様な機能」

秋山 弘子 (東京大学高齢社会総合機構)

「食糧需給の現状と今後の課題」

三石 誠司 (宮城大学)

セッション1:「食の選択—何を選択し、いつ食べるか?—」

「健康づくりと食の選択」

石見 佳子 ((独)国立健康・栄養研究所)

「時間栄養学」

小田 裕昭 (名古屋大学大学院)

30周年特別記念講演

「「栄養とエイジング研究」:一研究者の軌跡」

木村 修一 (ILSI Japan)

セッション2:「食文化と疾病構造」

「ヨーロッパにおける微量栄養素必要量についての調整」

Nico van Belzen (ILSI Europe)

「日本に肥満が少ない要因を食生活から探る」

御堂 直樹 (クノール食品株式会社)

「中国高齢者における栄養状態と関連する非感染性疾病について」

張 堅 (中国栄養・食品安全研究所)

「ムギ食文化圏における食卓と家族—中国新疆ウイグル族の事例から」

熊谷 瑞恵 (カイロ大学アジア研究所)

<第2日目> 9月29日(木)

セッション3:「身体活動と栄養の役割」

「高齢者における食事摂取基準」

佐々木 敏 (東京大学大学院)

「成人寿命全期間における活動エネルギー消費量と身体組成」

Klaas R Weterterp (Maastricht University)

「基礎トレーニングにおけるホルモン変化とボディコンポジション (body composition) の変容」

井澤 鉄也 (同志社大学大学院)

「サルコペニア予防を目的とした栄養摂取の役割」

藤田 聡 (立命館大学)

「高齢者のADLと栄養摂取の関わりに関するホットトピックス」

岡野 登志夫 (神戸薬科大)

「運動効果を高めるタンパク質補助栄養とその摂取タイミング」

水野 眞佐夫 (北海道大学大学院)

セッション4:「栄養と脳の高齢化」

「ブレイン・エイジング」

Matteo Cesari (University of Toulouse)

「高齢者における睡眠の質」

裏出 良博 ((財)大阪バイオサイエンス研究所)

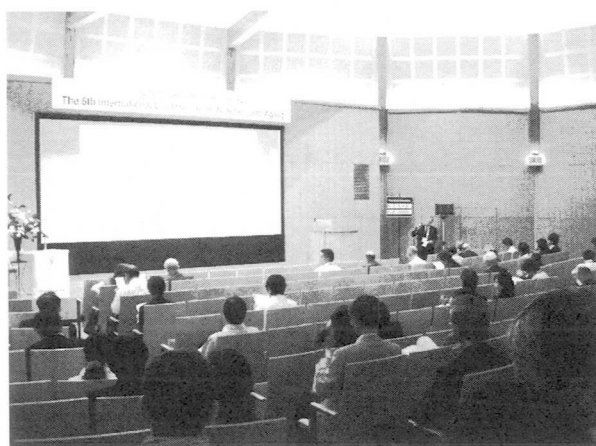
「運動と脳のフィットネス: 海馬の機能を高める軽運動」

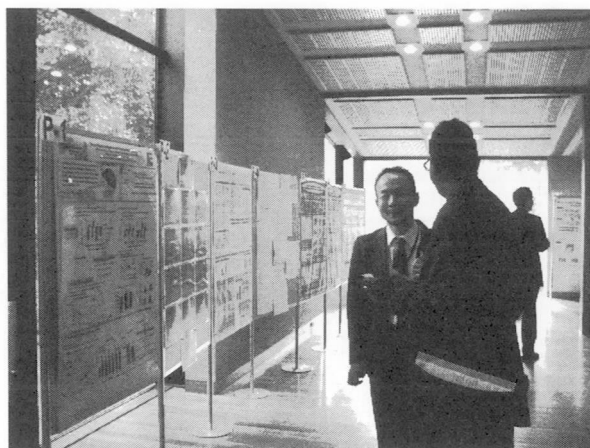
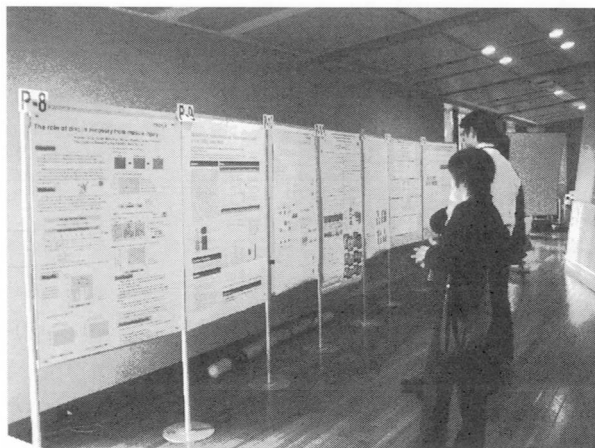
征矢 英昭 (筑波大学大学院)

「脳の高次機能と咀嚼」

増田裕次 (松本歯科大学大学院)

「生涯を通じての風味嗜好性: 誕生から高齢化まで」 GaryK Beauchamp (Monell Chemical Senses Center)





講演内容の詳細については、追って講演録を出版予定であるが、各セッションの概要は次のようなものであった。

まず、「超高齢社会の課題」と題して2つの基調講演が行われた。食が栄養以外に持つ身体的、心理的、社会的機能の重要性が取り上げられた。食に加えて、快適な生活環境を提供できるコミュニティのデザインが提案された。続いて、加速する世界人口増加がもたらす食糧需給の不確実性と遺伝子組換え作物や日本の「科学技術」の役割が提起された。

セッション1では「食の選択—何を選択し、いつ食べるか?—」と題し、まず、健康作りをサポートするための栄養政策や制度と併せて、日本人の栄養摂取と健康／疾病の変遷・現況がレビューされ、健やかな高齢期を過ごすための食の選択が考察された。食の選択にあたって、24時間の生活時間帯の中でいつ食べるかの重要性が、時間栄養学視点から情報提供された。

木村理事長による30周年特別記念講演では、「栄養とエイジング」国際会議がそれぞれの時代の健康問題を反映する情報発信という重要な役を担ってきたことや、疑問や興味を持たれた栄養研究は自らの目で確かめてみなければ気が済まないというご自身の科学者魂がエピソードを交えて紹介された。

続くセッション2では、「食文化と疾病構造」と題し、ヨーロッパの微量栄養素必要量の統一に関わる EURRECA の取り組み、日本と中国における食生活と非感染性疾患との関連性、そして中国新疆ウイグル族のムギ食文化が紹介された。日頃文化人類学なるものに触れる機会が少ないことから、コメ食文化の主食とムギ食文化の副食という概念の違いは、個人的に大変印象的であった。

2日目は早朝からまず、「身体活動と栄養の役割」をテーマにセッション3が開催され、セッションの中では最も多い6題が発表された。超高齢者の栄養必要量を推定する上での問題点や、加齢に伴う身体組成の変化と内容別消費エネルギーの関係および運動導入の効果についての知見が紹介された。続いて、加齢に伴う身体組成の変化がホルモンの変化による調節を受けている機構に関し、分子生物学的なアプローチ成績が紹介された。また、サルコペニアや骨折に起因する虚弱の対応策として、身体トレーニングとタンパク質や微量栄養素の効果的な摂取方法が話題提供された。

最後のセッション4では、「栄養と脳の高齢化」と題して5題が発表された。認知症に代表される高齢者の脳健康の障害は、身体的活動能力の低下とともに、高齢者のウェルネスを考える上で重要な問題である。脳の機能的、構造的損傷と再生とのバランスは酸化、炎症、内分泌機能など、多重要因によって影響されているので、特効薬は期待できない。運動や正しい食事に加え、認知力の訓練、適切な睡眠、咀嚼といった生活要素の各視点から論じられた。

<所感>

世界の人口は本年10月31日に70億人に達すると予測されているので、本誌が発行されるときには確実に70億人を超えているに違いない。45年前に学校で教わった世界の人口は38億人であったから、およそ半世紀の間に2倍近くにふくれあがったことになる。この先30年もしないうちに100億人超の世界を迎えるとの予測がある。この人口の増加には、注目しなければならない大きな特徴がある。それは、人口増加はアフリカ諸国やインドにおいて顕著であるということである。インドは中国を抜いて最も人口の多い国となると予測されている。一方、欧米の先進諸国や中国ではむしろ人口が減少し、しかも、65歳以上の高齢者比率の上昇を伴うことも重要な特徴である。そして日本の人口は今年、初めて減少に転じた。

これらが意味するところは明らかである。世界規模での食糧と水の不足である。食糧の生産量、生産効率が低く、農業用水の確保が厳しい諸国で人口が急激に増加する一方で、人口が減少する先進諸国では労働の担い手が不足し、この状況にはますます拍車がかかってくる。資金力があれば食糧も飲み水も国外から購入できる状況がこの先も続くとは考えないほうがよい。十分な栄養の摂取は超高齢化社会の中で生活活動力のあるウェルネスを享受してゆくために必須であることは論をまたないが、絵に描いた餅であってはならない。この大前提が崩れない社会の仕組みを地球規模で考えてゆかなければならない。それぞれの国が、あるべき姿の地域コミュニティの実現に取り組む課題とともに、国として世界の中でどのような役割を果たし、全体の解決策としてゆけばよいのか、今回のシンポジウムには、参加者が受け止めて行動に移さなければならない重要なメッセージがあった。

●会 報●

I. 会員の異動 (敬称略)

評 議 員 の 交 代 (会社名アイウエオ順)

交代年月	社 名	新	旧
2011.7	(株)アデカ	食品開発研究所 技術調査グループ 赤羽 文明	食品開発研究所長 板垣 和雄
2011.9	天野エンザイム(株)	MKT 本部副本部長 岐阜研究所長 木村 茂樹	岐阜研究所フロンティア研究部部長 小池田 聡
2011.7	カゴメ(株)	総合研究所 研究推進部長 前澤 勉	総合研究所 バイオジェニックス 研究部長 稲熊 隆博
2011.7	キッコーマン(株)	研究開発本部 基盤研究第1部 梶山 直樹	執行役員 研究開発本部長 松山 旭
2011.7	協和発酵バイオ(株)	技術開発部 マネジャー 森下 幸治	ヘルスケア営業部 山元 一弘
2011.8	キリンホールディングス(株)	技術戦略部 研究企画担当 名取 威徳	技術戦略部長 井上 勝訓
2011.7	太陽化学(株)	ニュートリション事業部 事業本部長 ジュネジャ レカ ラジュ	常務取締役 東京支店長 山崎 義樹
2011.7	高砂香料工業(株)	品質保証部 専任副部長 関谷 史子	研究開発本部 開発推進部部長 菅沼 利一
2011.7	(株)ニチレイフーズ	研究開発部技術研究グループ・ グループリーダー 小泉 雄史	(株)ニチレイスーコ 取締役専務執行役員 益田 和明
2011.7	日清オイリオグループ(株)	中央研究所 副所長 土屋 欣也	執行役員 青山 敏明
2011.7	不二製油(株)	フードサイエンス研究所 第三研究室室長 河野 光登	研究本部長 小林 誠
2011.7	プリマハム(株)	基礎研究所・第二課長 竹下 和子	基礎研究所・所長 鮫島 隆
2011.12	三井農林(株)	飲料原料事業本部 企画業務部 鈴木 壮幸	食品総合研究所 南条 文雄
2011.8	(株)明治	研究本部 食機能科学研究所 副所長 金子 哲夫	旧)明治製菓(株) 田代 靖人 旧)明治乳業(株) 佐々木 一
2011.7	森永製菓(株)	ヘルスケア事業部・ 上席執行役員/部長 伊藤 建比古	取締役 研究所長 木村 次男

入 会

入会年月日	社 名	代 表 (評議員)
2011.10.18	上野製薬(株)	R&D センター センター長 本多 純哉

退 会

退会年月	社 名
2011.11	塩水港精糖(株)
2011.11.	アラハタ(株)

Ⅱ. ILSI Japanの主な動き(2011年7月～10月)

* 特記ない場合の会場は ILSI Japan 会議室

- 7月4日 食品微生物研究部会
7月4～5日 NPO 法人国民健康会議主催「介護予防リーダー養成講習」(講師：木村美佳)
7月6日 栄養研究部会
7月7日 バイオテクノロジー研究部会
7月11～13日 岩国市社会福祉協議会錦支部主催「介護予防リーダー養成講習」
(講師：木村美佳、山口県岩国市)
- 7月12日 情報委員会
〃 食品機能性研究部会
7月14日 講演会「食品リスク評価の国際動向」(武居綾子先生、松尾真紀子先生)
(サントリー：台場)
- 7月15日 茶情報分科会
7月25～26日 NPO 法人国民健康会議主催「介護予防リーダー養成講習」(講師：木村美佳)
7月27日 第18回毒性学教育講座(江馬真先生)
(サントリー：台場)
- * CHP 「すみだテイクテン」第7期フォローアップ教室(7/5, 19, 20, 21, 22, 28)(墨田区6会場)
- 8月2日 国際協力委員会
8月8日 NPO 法人国民健康会議主催「介護予防リーダー養成講習」(講師：木村美佳)
8月9日 情報委員会
8月10日 栄養研究部会
8月30日 「栄養学レビュー」編集委員会
- 9月2日 墨田区高齢者福祉課主催「すみだテイクテン」栄養講演会
『最新研究が教える食事の秘訣～高齢者は肉も脂も食べよう～』
(講師：熊谷修先生、東京・墨田区役所リバーサイドホール)
- 9月5日 リズムテンカウンセラー養成 DVD 用講義撮影
(「栄養」講師：丸山千寿子先生、「カウンセリング手法」講師：木村美佳)
- 9月5日 食品機能性研究部会：免疫分科会(アドバイザー：上野川修一先生)
(大塚製薬)
- 9月6日 国際協力委員会
9月9日 情報委員会
〃 茶情報分科会

- 9月12日 バイオテクノロジー研究部会 (Dr. G. Ladics 講演会)
 ♪ 食品機能性研究部会 (都健康長寿医療センター研究所訪問 新開省二部長と意見交換)
- 9月13日 食品機能性研究部会
- 9月14日 23年度第4回理事会
- 9月15日 栄養研究部会
- 9月16日 食品微生物研究部会
- 9月21日 第19回毒性学教育講座 (大沢基保先生) (サントリー：台場)
- 9月27日 第3回 BeSeTo 会議 (都市センターホテル)
 ♪ 講演会「EU の健康強調表示の最新情報」 (Dr. Nico van Belzen) (星陵会館)
- 9月28～30日 第6回「栄養とエイジング」国際会議 (東京大学 弥生講堂)
- * CHP 「すみだテイクテン」第7期講習会 (初心者対象：9/6, 7, 8, 9, 13, 22, 27) (墨田区5会場)
 「すみだテイクテン」第7期フォローアップ教室 (9/14, 15, 26, 27, 29) (墨田区6会場)
- 10月6日 「栄養学レビュー」編集委員会
- 10月11日 情報委員会
- 10月12日 国際協力委員会
- 10月13日 「泉北ほっとけないネットワーク」大阪市立大学春木研究室主催テイクテン講習会
 (講師：木村美佳、大阪・堺市 泉北ニュータウン榎塚台)
- 10月20日 栄養研究部会 (プログラム委員会)
- 10月24日 バイオテクノロジー研究部会：第1回「環境影響評価 (ERA) に関する勉強会」
 ♪ 世田谷区主催介護予防教室
 (講師：木村美佳、世田谷区上祖師谷グループホームかたらい)
- 10月26日 食品機能性研究部会：脳機能分科会 (講師：武田弘志先生)
- 10月31日 第1回「食品のリスクアセスメント解説」勉強会 (広瀬明彦先生)
 (サントリー：台場)
- * CHP 「すみだテイクテン」第7期講習会 (初心者対象：10/3, 4, 5, 6, 11, 14, 18, 25, 26, 27) (墨田区5会場)
 「すみだテイクテン」第7期フォローアップ教室 (10/14, 18, 20, 25, 26, 27) (墨田区6会場)

Ⅲ. ILSI カレンダー

◆ 2012 ILSI 本部総会

日時：2012年1月20日～25日

場所：アリゾナ・グランド・ホテル (米国アリゾナ州フェニックス)

◆ 2012 ILSI Japan 総会 / 第7回ライフサイエンス・シンポジウム

日時：2012年2月15日

場所：タイム24ビル 研修室201 (東京、江東区)

午前10時より ILSI Japan 総会

午後1時～5時45分 ライフサイエンス・シンポジウム

「健康寿命の延伸につなげる栄養学の新たな切り口」

IV. 発刊のお知らせ

ILSI Japan Report Series

清涼飲料水における芽胞菌の危害とその制御

ILSI Japan 食品微生物研究部会 編

【Part 1 総論】

はじめに

1. 加工食品における危害微生物としての細菌芽胞

- 1.1 市販加工食品の pH と A_w
- 1.2 食品の腐敗、変敗に関与する微生物
- 1.3 食品から分離された *Bacillus* 属
- 1.4 加熱殺菌の対象となる *Bacillus* 属の性状
- 1.5 耐熱性 *Bacillus* 属を簡易同定するための性状
- 1.6 原材料の耐熱性 *Bacillus* 属芽胞の検査方法

2. 清涼飲料水における芽胞菌リスク

- 2.1 清涼飲料水における芽胞菌リスク
- 2.2 食品衛生上問題となる主要な芽胞菌

【Part 2 各論】

3. 野菜飲料における芽胞菌リスク

- 3.1 はじめに
- 3.2 トマトジュースの主な危害芽胞菌
- 3.3 トマトジュースおよびトマト製品のその他腐敗・変敗原因菌について
- 3.4 トマトジュース及びトマト缶詰製品の微生物制御のまとめ

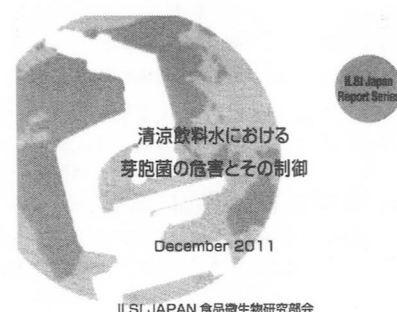
4. 茶系飲料における芽胞菌リスク

- 4.1 緑茶飲料の製造
- 4.2 原料緑茶の管理
- 4.3 飲料工場の環境微生物管理
- 4.4 緑茶中の抗菌成分カテキン類と緑茶飲料危害菌としての *Bacillus* 属類緑細菌
- 4.5 混合茶や麦茶における芽胞菌リスクとその制御

5. 酸性飲料における芽胞菌リスクのトピックス

- 5.1 好熱性好酸性菌 (TAB) の研究動向
- 5.2 その他の芽胞菌の研究動向
- 5.3 耐熱性カビ (Heat Resistant Mold) の研究動向

会員・非会員：5,000 円（送料別） ILSI Japan 事務局にご注文ください。



監修：宮本 敬久

特定非営利活動法人
ILSI 国際生命科学研究機構
International Life Sciences Institute Japan

ILSI Japan Report Series

「日本の食生活と肥満研究部会」報告

ILSI Japan 日本の食生活と肥満研究部会 編

目次

1. 発酵食品の多様性分科会

日本食からみる発酵食品の多様性と日本人の健康
一肥満を中心に

2. 脂質の種類分科会

日本人の脂肪摂取と肥満

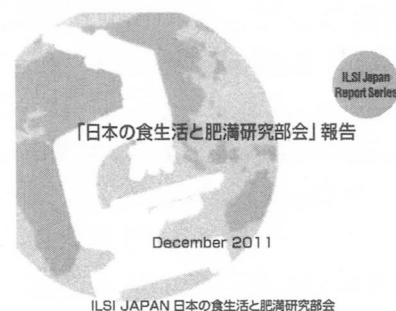
3. 食事の量分科会

日本人に肥満者が少ないのは加糖飲料の摂取量が
少ないためか？

関連文献（日本語・英語）

日本に肥満が少ない要因を食生活から探る

A survey of dietary factors influencing a small proportion of obese people in Japan



特定非営利活動法人
ILSI 国際生命科学研究機構
International Life Sciences Institute Japan

会員：1,000 円 非会員：2,000 円（各送料別） ILSI Japan 事務局にご注文ください。

毒性学教育講座 上巻

監修：福島昭治

ILSI Japan 食品微生物研究部会・食品リスク研究部会 編

目次

第1回 毒性病理学総論 - 前半 -

第2回 毒性病理学総論 - 後半 -、

消化管 - 前半（口腔、舌、食道、前胃） -

第3回 消化管 - 後半（胃、腸） -、泌尿器

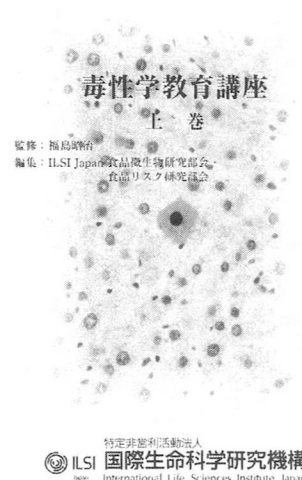
第5回 活性酸素・活性酸化窒素と毒性

第7回 薬物代謝と毒性学 - 薬物代謝の基礎 -

第8回 薬物代謝と毒性学 - 薬物代謝と毒性学 -

第9回 薬物代謝と毒性学 - 腸内細菌による薬物代謝 -、

- 環境化学物質の毒性と薬物代謝 -



会員・非会員：10,000 円（送料別） ILSI Japan 事務局にご注文ください。

栄養学レビュー (Nutrition Reviews 日本語版) 第 19 巻第 4 号 通巻 73 号 (2011/SPRING)

≪「精神的活力」の新定義と研究の現状≫

特定の食品成分およびサプリメントは精神的活力に影響を及ぼすか？

〔総説〕

- ・頭相反応と食欲
- ・クルクミンと肥満：証拠と機序
- ・極低出生体重 (VLBW) 児の新生児期におけるグルタミン強化栄養の長期的影響
- ・穀物由来食物繊維の分子構造と健康効果との関係について：グルコース／インスリン応答と消化管の健康に焦点を当てて

〔最新科学〕

- ・内因性オールトランスレチノイン酸の組織特異的増加：アルコール毒性に關与する可能性

定価：各 2,205 円 (税込) (本体：2,100 円 代引き送料：200 円／冊)

* ILSI Japan 会員には毎号 1 部無料で配布いたします

* その他購入方法

ILSI Japan 会員	ILSI Japan 事務局にお申し込み下さい (1 割引になります)
非会員	下記販売元に直接ご注文下さい。 (女子栄養大学出版部 TEL：03-3918-5411 FAX：03-3918-5591)



栄養学レビュー (Nutrition Reviews 日本語版) 第 20 巻第 1 号 通巻 74 号 (2011/SPRING)

Nutrition Reviews® Volume 69, Number 2

〔巻頭論文〕

健康時と疾病時における栄養管理に対するミトコンドリアの応答

〔特別論文〕

消化管微生物叢の発生の潜在力：エネルギー恒常性と体重管理に対する意味

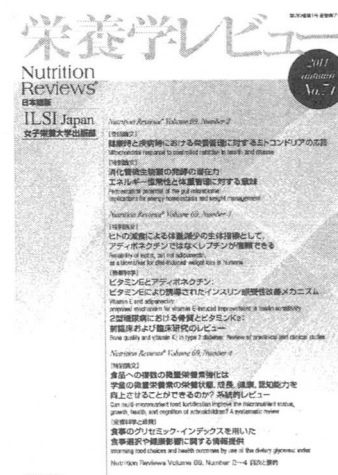
Nutrition Reviews® Volume 69, Number 3

〔特別論文〕

ヒトの減食による体重減少の生体指標として、アディポネクチンではなくレプチンが信頼できる

〔最新科学〕

ビタミン E とアディポネクチン：ビタミン E により誘導されたインスリン感受性改善メカニズム
2 型糖尿病における骨質とビタミン K2：前臨床および臨床研究のレビュー



Nutrition Reviews® Volume 69, Number 4

〔特別論文〕

食品への複数の微量栄養素強化は学童の微量栄養素の栄養状態、成長、健康、認知能力を向上させることができるのか？
系統的レビュー

〔栄養科学と政策〕

食事のグリセミック・インデックスを用いた食事選択や健康影響に関する情報提供

定価：各 2,205 円（税込）（本体：2,100 円 代引き送料：200 円／冊）

* ILSI Japan 会員には毎号 1 部無料で配布いたします

* その他購入方法

ILSI Japan 会員	ILSI Japan 事務局にお申し込み下さい（1 割引になります）
非会員	下記販売元に直接ご注文下さい。 （女子栄養大学出版部 TEL：03-3918-5411 FAX：03-3918-5591）

IV. ILSI Japan 出版物

ILSI Japan 出版物は、ホームページからも購入お申し込みいただけます。

下記以前の号については ILSI Japan ホームページをご覧ください。

(<http://www.ilsijapan.org/ilsijapan.htm>)

○ 定期刊行物

【イルシー】

イルシー 107 号

<特集：ILSI Japan 30 周年記念 国際会議 要旨集>

第6回「栄養とエイジング」国際会議

超高齢社会のウェルネス—食料供給から食行動まで

2011 年 9 月 28 日～30 日 於：東京大学弥生講堂・一条ホール

- ・開催にあたって
- ・組織／日程表／プログラム
- ・第6回「栄養とエイジング」国際会議 講演要旨
- ・30 周年記念 ILSI Japan 事業 講演要旨
- 東京大学寄付講座「機能性食品ゲノミクス」

<栄養とアンチエイジング—ゲノミクスによる科学的検証>

ILSI Japan 研究会・部会の研究関連トピックス

- ・ポスター・プレゼンテーション 要旨

イルシー 106号

- ・食品表示を見分ける分析技術
- ・乳児用調製乳の国際化を支える主要な規格について
- ・老化による認識機能低下とその防御
- ・グルコサミンの変形性関節症に対する臨床評価と科学的根拠としての信頼性
- ・広瀬明彦先生の「2010年 JECFA 報告」のご執筆にあたって
- ・JECFA における汚染化学物質の BMD 手法を用いた MOE 評価について
- ・ILSI Japan 国際シンポジウム
「リスク評価における TTC の有用性」
- ・FAO / WHO 合同食品規格計画
第 43 回コーデックス食品添加物部会報告
- ・FAO / WHO 合同食品規格計画
第 39 回コーデックス食品表示部会報告
- ・パネルディスカッション
「食品のリスク評価とコミュニケーションの課題と今後の対応」を聴講して
- ・＜研究部会トピックス＞
遺伝子組換え作物の信頼できる情報はどこにある？（バイオテクノロジー研究会）

【栄養学レビュー（Nutrition Reviews 日本語版）】

栄養学レビュー 第 20 巻第 1 号 通巻第 74 号 (2011/SPRING)

Nutrition Reviews® Volume 69, Number 2

【巻頭論文】

健康時と疾病時における栄養管理に対するミトコンドリアの応答

【特別論文】

消化管微生物叢の発行の潜在力：エネルギー恒常性と体重管理に対する意味

Nutrition Reviews® Volume 69, Number 3

【特別論文】

ヒトの減食による体重減少の生体指標として、アディポネクチンではなくレプチンが信頼できる

【最新科学】

ビタミン E とアディポネクチン：ビタミン E により誘導されたインスリン感受性改善メカニズム
2 型糖尿病における骨質とビタミン K₂：前臨床および臨床研究のレビュー

Nutrition Reviews® Volume 69, Number 4

【特別論文】

食品への複数の微量栄養素強化は学童の微量栄養素の栄養状態、成長、健康、認知能力を向上させることができるのか？
系統的レビュー

【栄養科学と政策】

食事のグリセミック・インデックスを用いた食事選択や健康影響に関する情報提供

栄養学レビュー 第19巻第4号 通巻第73号 (2010/WINTER)

◀「精神的活力」の新定義と研究の現状▶

特定の食品成分およびサプリメントは精神的活力に影響を及ぼすか？

〔総説〕

- ・頭相反応と食欲
- ・クルクミンと肥満：証拠と機序
- ・極低出生体重（VLBW）児の新生児期におけるグルタミン強化栄養の長期的影響
- ・穀物由来食物繊維の分子構造と健康効果との関係について：グルコース／インスリン応答と消化管の健康に焦点を当てて

〔最新科学〕

- ・内因性オールトランスレチノイン酸の組織特異的増加：アルコール毒性に関与する可能性

○ 安全性

	誌名等	発行年月	備考
国際会議講演録	安全性評価国際シンポジウム	1984.11.	
研究委員会報告書	加工食品の保存性と日付表示ー加工食品を上手に楽しく食べる話ー （「ILSI・イルシー」別冊Ⅲ）	1995. 5.	
研究部会報告書	食物アレルギーと不耐症	2006. 6.	
ILSI Japan Report Series	食品に関わるカビ臭（TCA）その原因と対策 A Musty Odor (TCA) of Foodstuff: The Cause and Countermeasure （日本語・英語 合冊）	2004.10.	
ILSI Japan Report Series	食品の安全性評価のポイント	2007. 6.	
ILSI Japan Report Series	清涼飲料水における芽胞菌の危害とその制御	2011.12.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	ADI、許容ー日摂取量（翻訳）	2002.12.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	食物アレルギー	2004.11.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	毒性学的懸念の閾値（TTC） ー食事に低レベルで存在する毒性未知物質の評価ツールー（翻訳）	2008.11.	
その他	ビタミンおよびミネラル類のリスクアセスメント（翻訳）	2001. 5.	
その他	食品中のアクリルアミドの健康への影響（翻訳） （2002年6月25～27日 FAO／WHO 合同専門家会合報告書 Health Implication of Acrylamide in Food 翻訳）	2003. 5.	
その他	好熱性好酸性菌ー <i>Alicyclobacillus</i> 属細菌ー	2004.12.	
その他	<i>Alicyclobacillus</i> （英語）	2007.	シェリング・プラウ
その他	毒性学教育講座 上巻	2011.12.	

○ バイオテクノロジー

	誌名等	発行年月	備考
国際会議講演録	バイオ食品ー社会的受容に向けて （バイオテクノロジー応用食品国際シンポジウム講演録）	1994. 4.	建帛社
研究部会報告書	バイオ食品の社会的受容の達成を目指して	1995. 6.	
研究部会報告書	遺伝子組換え食品 Q & A	1999. 7.	
ILSI Japan Report Series	生きた微生物を含む食品への遺伝子組換え技術の応用を巡って	2001. 4.	
ILSI Japan Report Series	遺伝子組換え食品を理解するⅡ	2010. 9.	
その他	FAO/WHO レポート「バイオ食品の安全性」（第1回専門家会議翻訳）	1992. 5.	建帛社
その他	食品に用いられる生きた遺伝子組換え微生物の安全性評価 （ワークショップのコンセンサス・ガイドライン翻訳）	2000.11	

○ 栄養・エイジング・運動

	誌名等	発行年月	備考
国際会議講演録	栄養とエイジング（第1回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	1993.11.	建帛社
国際会議講演録	高齢化と栄養（第2回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	1996. 4.	建帛社
国際会議講演録	長寿と食生活（第3回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	2000. 5.	建帛社
国際会議講演録	ヘルスプロモーションの科学（第4回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	2000. 4.	建帛社
国際会議講演録	「イルシー」No. 94 ＜特集：第5回「栄養とエイジング」国際会議講演録＞ ヘルシーエイジングを目指して～ライフステージ別栄養の諸問題	2008. 8.	
国際会議講演録	Proceedings of The 5th International Conference on "Nutrition and Aging" （第5回「栄養とエイジング」国際会議講演録 英語版）CD-ROM	2008.12.	
栄養学レビュー特別号	ケロッグ栄養学シンポジウム「微量栄養素」－現代生活における役割－	1996. 4.	建帛社
栄養学レビュー特別号	「運動と栄養」－健康増進と競技力向上のために－	1997. 2.	建帛社
栄養学レビュー特別号	ネスレ栄養会議「ライフステージと栄養」	1997.10.	建帛社
栄養学レビュー特別号	水分補給－代謝と調節－	2006. 4.	建帛社
栄養学レビュー特別号	母体の栄養と児の生涯にわたる健康	2007. 3.	建帛社
ワーキング・グループ報告	日本人の栄養	1991. 1.	
研究部会報告書	パーム油の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅰ）	1994.12.	
研究部会報告書	魚介類脂質の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅱ）	1995. 6.	
研究部会報告書	畜産脂質の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅳ）	1995.12.	
研究部会報告書	魚の油－その栄養と健康－	1997. 9.	
ILSI Japan Report Series	食品の抗酸化機能とバイオマーカー	2002. 9.	
ILSI Japan Report Series	日本人の肥満とメタボリックシンドローム－栄養、運動、食行動、肥満生理研究－ （英語版 CD-ROM 付）	2008.10.	
ILSI Japan Report Series	「日本の食生活と肥満研究部会」報告	2011.12.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	油脂の栄養と健康（付：脂肪代替食品の開発）（翻訳）	1999.12.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	食物繊維（翻訳）	2007.12.	
その他	最新栄養学（第5版～第9版）（“Present Knowledge in Nutrition”邦訳）		建帛社
その他	世界の食事指針の動向	1997. 4.	建帛社
その他	高齢者とビタミン（講演録翻訳）	2006. 6.	

○ 糖類

	誌名等	発行年月	備考
国際会議講演録	国際シンポジウム 糖質と健康 （ILSI Japan20 周年記念国際シンポジウム講演録・日本語版）	2003.12.	建帛社
国際会議講演録	Nutrition Reviews-International Symposium on Glycemic Carbohydrate and Health（ILSI Japan20 周年記念国際シンポジウム講演録・英語版）	2003. 5.	
ILSI Japan Report Series	食品の血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発に関する基礎調査報告書	2005. 3.	
ILSIヨーロッパモノグラフシリーズ	炭水化物：栄養と健康	2004.11.	
ILSI砂糖モノグラフシリーズ	糖と栄養・健康－新しい知見の評価（翻訳）	1998. 3.	
ILSI砂糖モノグラフシリーズ	甘味－生物学的、行動学的、社会的観点（翻訳）	1998. 3.	
ILSI砂糖モノグラフシリーズ	う触予防戦略（翻訳）	1998. 3.	
ILSI砂糖モノグラフシリーズ	栄養疫学－可能性と限界（翻訳）	1998. 3.	
その他	糖類の栄養・健康上の諸問題 （ <i>Am. J. Clin. Nutr.</i> , Vol. 62, No.1 (S), 1995 翻訳）	1999. 3.	

○ 機能性食品

	誌名等	発行年月	備考
研究部会報告書	日本における機能性食品の現状と課題	1998. 7.	
研究部会報告書	機能性食品の健康表示－科学的根拠と制度に関する提言－	1999.12.	
研究部会報告書	上記英訳 “Health Claim on Functional foods”	2000. 8.	
ILSI Japan Report Series	日本における機能性食品科学	2001. 8.	
ILSI Japan Report Series	機能性食品科学とヘルスクレーム	2004. 1.	

○ CHP

	誌名等	発行年月	備考
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」冊子	2002. 4. 初版発行 2007. 6. 第3版発行	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」の かんたんごはん	2008. 2.	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」の かんたんごはん2	2008. 2.	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」DVD 基礎編	2007. 4.	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」DVD 応用編	2009. 4.	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」DVD 基礎編＋応用編（2枚組）	2009. 4.	

編集後記

第1回「栄養とエイジング」国際会議がILSI Japan設立10周年を記念して開催されて20年目。第6回「栄養とエイジング」国際会議がILSI Japan設立30周年記念シンポジウムをポストシンポジウムとして9月末に東大弥生講堂一条ホールで開催された。第1回開催時は、ILSIの活動における加齢の研究については、世界第1位の長寿国である日本の支部であるILSI Japanに本テーマの推進役となってもらおうという期待と責務を持って、世界に発信する役割を担うという構想があった。現在は、そのような組織的な方向性は薄れているが、依然として日本は、加齢に関する科学の発信に関して重要な役割を持っている。

私自身は、第1回目は、会員企業担当者としてILSI Japanの広報委員会委員であったことから、当国際会議にも広報委員として協力をさせていただいた。その後はILSI Japanの栄養部会員として、国際会議実行委員として関与させていただき、本6回目は、事務局員の立場からプログラムコーディネータとして参画をさせていただいた。第6回の国際会議の感想を述べさせていただくと、まず、プログラムの内容が少し盛りだくさん過ぎたかなという印象を持った。一方で、5回目までの開催に比べて今回ご協力をいただいた講演者の方々には、海外でのご経験が豊富な方、若い研究者の方が多く、ご講演内容およびスタイルに非常に引きつけられる印象を持った。最後に、ILSI Japanとしては、栄養部会を中心に第7回の開催に向けて、またILSI本部・支部への発信を念頭におき、ILSI Japan研究部会の研究活動の成果が発表あるいは発信できるような活動体制を期待するところである。さらに海外からの参加者がもっと増えるような計画的戦略が求められるとも思う。特に、国際アジア栄養会議との連携も考慮していくのもひとつの方向性かも知れない。そして、我が国の健康栄養政策に取り入れられる発信ができれば喜ばしいことである。

(翔)

イルシール ILSI JAPAN No.108

2012年1月 印刷発行

特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構(ILSI JAPAN)

理事長 木村修一

〒102-0083 東京都千代田区麹町2-6-7

麹町R・Kビル1階

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

ホームページ <http://www.ilsijapan.org/>

編集委員長 末木一夫

印刷：(株)リョーイン

(無断複製・転載を禁じます)

<Special Issue>

CONTENTS

- Creativity of Functional Foods
- Food Safety: Cancer Prevention Measures

- Celebrating Message for the 30th Anniversary of ILSI Japan

- ILSI Japan Chronicle

- Proceedings of Events for the 30th Anniversary Year

The University of Tokyo, ILSI Japan Endowed Chair of Functional Food Science and Nutrigenomics
(Nutrition and Anti-aging – Genomic Validation)

I Opening Remarks

Nutrition and Anti-Aging –Science Investigation by Genomics

(Keiko Abe)

II Anti-Aging and Functional Food Factors

Biochemical Investigation and Gene Expression Analysis of the Immunostimulatory Functions
of an Edible Salacia Extract in Rat Small Intestine

(Yuriko Oda)

Expression Change of the Insulin Signaling Pathway Related Genes in Liver

of Type 2 Diabetic GK Rats by Administration of Persimmon Peel Extract

(Ryoichi Izuchi)

Administration of Tomato Modifies Hepatic Glucose and Lipid Metabolism in Mice

(Koichi Aizawa)

Stress Regulation by Inhalation of (R)-(-)-Linalool as Seen from Gene Expression Analysis

(Akio Nakamura)

III Recommended Mineral Intake, Genomics and the Current Evidence

Hepatic Gene Expression Analyses for Assessment of a Reference Iron Intake

(Asuka Kamei)

IV Anti-Aging, Worldwide Research Trends

Chinese Strategy on Anti-aging Research Trends

(Zhengwei Fu)

Metabolism and Anti-aging by Caloric Restriction

(Rozalyn M. Anderson)

ILSI Japan Research Committee Topics

【Carbohydrates Task Force】

Purpose of Creating the New Index, “Glycemic Release Rate”

(Shuichi Kimura)

In vitro Measurement of Glycemic Response of Foods and Meals Based
on Glucose Releasing Rate (GR)

(Hideshi Kumai)

Carbohydrates Task Force toward Practical Application of the GR Method

(Yukiko Nakanishi)

【Food Functionalities Research Committee】

Evaluation Method of the Effect of Nutrition and Food Composition on Brain Function

–Utility of Behavioral and Pharmacological Technique–

(Hiroshi Takeda/Minoru Tsuji)

【Biotechnology Research Committee】

Progress towards the Use of Monsanto’s Healthy Omega-3 Fatty Acid

Producing Genetically Modified Soy as a Food

(Richard S. Wilkes)

【Food Safety Research Committee】

Threshold of Toxicological Concern (TTC) Concept and Safety Assessment of Food Additives

(Yoichi Konishi)

What Is the MOE Approach?

–New Risk Assessment Tool for Genotoxic Carcinogen in Food

(Kenkichi Fujii)

【Center for Health Promotion, CHP】

ILSI Japan CHP Activities to Benefit Society

(Takashi Togami)

- Flash Report

Brief Report on the 6th International Conference “Nutrition and Aging”

<Advanced Aging and Wellness-From Food Supply to Dietary Habits>