

# 第 29 回 日本微量栄養素学会学術集会 プログラム

平成 24 年 6 月 2 日  
京都リサーチパーク

10 : 00 ~ 10 : 05

## 開会の辞

会頭：河村幸雄（近畿大学）

10 : 05 ~ 10 : 35

## 口頭発表

座長：渡邊敏明（兵庫県立大学）

10 : 05 ~ 10 : 20

### O-1 マウスにおけるケトン食摂取がビオチン欠乏に及ぼす影響

湯浅正洋\*, 松井朝義, 安藤沙織, 渡邊敏明

(兵庫県立大学大学院環境人間学研究科)

10 : 20 ~ 10 : 35

### O-2 日本酒中の D-アミノ酸の生成機構の解明

郷上佳孝\*<sup>1)</sup>, 岡田かおり<sup>1)</sup>, 森山昌和<sup>2)</sup>, 溝口晴彦<sup>2)</sup>, 老川典夫<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>関西大学・化学生命工, <sup>2)</sup>菊正宗酒造(株)総合研究所)

10 : 35 ~ 11 : 05

## 口頭発表

座長：松井 徹（京都大学）

10 : 35 ~ 10 : 50

### O-3 イメージングマススペクトロメトリーによるヒト腹部大動脈瘤の病理解析

財満信宏\*<sup>1)</sup>, 毛利陽平<sup>1)</sup>, 田中宏樹<sup>2)</sup>, 森山達哉<sup>1)</sup>, 河村幸雄<sup>1)</sup>,

海野直樹<sup>2)</sup>, 瀬藤光利<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>近畿大院・農・応生化, <sup>2)</sup>浜松医大)

10 : 50 ~ 11 : 05

### O-4 脂肪細胞からのレジスチン分泌を抑制する食品成分の探索

若木泰子\*, 吉村征浩, 鶴澤有希, 財満信宏, 森山達哉, 河村幸雄

(近畿大院・農・応生化)

11 : 05 ~ 11 : 35

## 口頭発表

座長：荒川泰昭（労働安全衛生総合研究所）

11:05～11:20 O-5 マウスを用いた牡蠣抽出物の抗不安作用の検討  
増澤 徹<sup>\*1,3)</sup>, 松井博之<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>2)</sup>, 朝戸めぐみ<sup>3)</sup>, 池田弘子<sup>3)</sup>,  
亀井淳三<sup>3)</sup>  
(<sup>1)</sup>株式会社新薬開発研究所, <sup>2)</sup>日本クリニック(株)・中央研究所,  
<sup>3)</sup>星薬科大学薬物治療学教室)

11:20～11:35 O-6 かき抽出エキス含有食品の12週間摂取による肝機能への影響  
竹原 功<sup>\*1)</sup>, 矢野夕幾<sup>1)</sup>, 松井博之<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>2)</sup>, 福原育夫<sup>3)</sup>  
(<sup>1)</sup>株式会社新薬開発研究所, <sup>2)</sup>日本クリニック(株)・中央研究所,  
<sup>3)</sup>福原医院)

11:35～12:05

#### 口頭発表

座長：鈴木鐵也（クイーンズランド大学）

11:35～11:50 O-7 カキ肉廃棄物の摂取がラットの血清及び肝臓脂質濃度に及ぼす影響  
細見亮太<sup>\*1)</sup>, 野田晴嵩<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>3)</sup>, 西山利正<sup>4)</sup>, 福永健治<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>鳥取短期大学生生活学科食物栄養専攻,  
<sup>2)</sup>関西大学化学生命工学部生命・生物工学科,  
<sup>3)</sup>日本クリニック(株)・中央研究所, <sup>4)</sup>関西医科大学公衆衛生学講座)

11:50～12:05 O-8 カンボジアにおける鉄強化魚醤および醤油の市場投入による貧血改善効果  
中西由季子<sup>\*1,2)</sup>, Juliet Cadungog-Uy<sup>3)</sup>, Sol Sowath<sup>3)</sup>, Koum Kanal<sup>4)</sup>,  
Buth Sokhal<sup>5)</sup>, 高梨久美子<sup>2)</sup>, 戸上貴司<sup>2)</sup>, Theary Chan<sup>3)</sup>  
(<sup>1)</sup>甲子園大学, <sup>2)</sup>ILSI Japan, <sup>3)</sup>RACHA, Cambodia,  
<sup>4)</sup>NMCHC, Cambodia, <sup>5)</sup>NIPH, Cambodia)

12:05～13:15

#### 昼食・評議員会

13:15～13:45

#### 総会

13:45～14:55

#### 特別講演

座長：河村幸雄（近畿大学）

13:45～14:55

#### こめトコトリエノールの癌抑制作用

宮澤陽夫  
(東北大学)

14:55～15:10

#### 休憩

15:10 ~ 15:55

ポスター要旨発表

15:55 ~ 16:55

ポスターセッション

- P-1 日本人成人女性ビーガンのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量の評価**  
湯川法子\*<sup>1)</sup>, 細見亮太<sup>2)</sup>, 福永健治<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>関西大学化学生命工学部生命・生物工学科, <sup>2)</sup>鳥取短期大学生活学科食物栄養専攻)
- P-2 成人女性における葉酸摂取と血清葉酸量との関連についての検討**  
松本希美\*<sup>1,2)</sup>, 溝畑秀隆<sup>1)</sup>, 渡邊敏明<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>神戸松蔭女子学院大学, <sup>2)</sup>兵庫県立大学)
- P-3 ノダフジ (*Wisteria floribunda*) 種子に含まれる抗糖尿病因子の探索**  
菊永竜太郎\*<sup>1)</sup>, 井上朋世<sup>1)</sup>, 山田敬博<sup>1)</sup>, 太田伸二<sup>1,2)</sup>, 河内浩行<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>長浜バイオ大学・バイオサイエンス, <sup>2)</sup>広島大院・生物圏)
- P-4 フッ素水投与後による HIGA マウス及び BALB/c マウスの尿中タンパクとクレアチニンへの影響**  
木戸尊将\*<sup>1,2)</sup>, 角田正史<sup>1)</sup>, 菅谷ちえ美<sup>1)</sup>, 柳澤裕之<sup>2)</sup>, 相澤好治<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>北里大学医学部衛生学, <sup>2)</sup>東京慈恵会医科大学医学部環境保健医学講座)
- P-5 マグネシウム欠乏がラットのもリブデン代謝に及ぼす影響**  
金 己鉉\*<sup>1)</sup>, 井口英里華<sup>1)</sup>, 舟場正幸<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>2)</sup>, 松井 徹<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>京都大学農学研究科・動物栄養科学, <sup>2)</sup>関西大化学生命工学部・食品工学)
- P-6 糸状菌分泌物がアイズプラントのピニトール生合成遺伝子の発現に与える影響**  
斎藤茂樹\*<sup>1)</sup>, 山野孝太郎<sup>1)</sup>, 谷 泰史<sup>1)</sup>, 早川 真<sup>2)</sup>, 辻 昭久<sup>2)</sup>, 三原久明<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>立命館大・生命科学, <sup>2)</sup>日本アドバンストアグリ)
- P-7 アルギニン応答性インスリン分泌機構におけるビオチンの作用部位について**  
曾根英行\*<sup>1)</sup>, 神山 伸<sup>1)</sup>, 古川勇次<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>新潟県立大・健康栄養, <sup>2)</sup>東北大院農・栄養)
- P-8 黒酢及び食酢中の D-アミノ酸の定量的解析**  
岡田かおり\*<sup>1)</sup>, 郷上佳孝<sup>1)</sup>, 竹下義隆<sup>2)</sup>, 老川典夫<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>関西大学化学生命工学部, <sup>2)</sup>福山黒酢株式会社)
- P-9 母親手作りの離乳食からのミネラル摂取量の推定と評価**  
吉田宗弘\*, 増田卓也, 高橋健哉  
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

P-10 妊娠における葉酸状態についての検討

溝畑秀隆\*<sup>1)</sup>, 渡邊敏明<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>神戸松蔭女子学院大学, <sup>2)</sup>兵庫県立大学)

P-11 特定健康診査における積極的支援対象者の血中微量栄養素測定を試み

宮崎 孝\*<sup>1)</sup>, 大野洋一<sup>1,2)</sup>, 佐藤真喜子<sup>1)</sup>, 望月 徹<sup>1)</sup>, 野寺 誠<sup>3)</sup>, 竹中恒夫<sup>2)</sup>,  
井上 勉<sup>2)</sup>, 柴崎智美<sup>1)</sup>, 鈴木洋通<sup>1,3)</sup>

(<sup>1)</sup>埼玉医科大学・地域医学医療センター, <sup>2)</sup>埼玉医科大学・腎臓内科,  
<sup>3)</sup>保健医療学部健康医療科学科)

P-12 葉酸コングルゲラーゼ活性に及ぼす食品成分の影響

榎原周平\*, 柴垣 圭, 林 智里, 塩谷麻衣, 大串美沙, 渡邊敏明

(兵庫県立大・環境人間)

P-13 *Shewanella livingstonensis* Ac10 のエイコサペンタエン酸生合成酵素の機能解析

宮 春傑\*, 川本 純, 江崎信芳, 栗原達夫

(京大・化研)

P-14 エイコサペンタエン酸生産菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 由来

1-アシル-sn-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ (PlsC) の機能解析

趙 賢南\*, 笠井 渉, 川本 純, 江崎信芳, 栗原達夫

(京大・化研)

P-15 ヒジキ成育過程における Fe・Mg の集積について。

片山真之, 笠間基寛, 片山洋子\*

(大阪青山大学健康科学部)

P-16 かき肉エキスによる海馬の総グルタチオン増強

福田 卓\*, 春松 楨, 松井博之, 松田芳和

(日本クリニック(株)・中央研究所)

16:55 ~ 17:25

口頭発表

座長: 江崎信芳 (京都大学)

16:55 ~ 17:10

O-9 ピリジン、ジアジニカルボン酸誘導体の金属イオンを介した活性酸素生成機構

村上恵子\*, 細川好孝, 吉野昌孝

(愛知医大・医・生化)

17:10 ~ 17:25

O-10 小麦胚芽中亜鉛の生体利用性

横井克彦\*<sup>1,2)</sup>, 古川由梨<sup>2)</sup>, 高橋美貴<sup>2)</sup>, 吉村有希子<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>聖徳大学大学院人間栄養学研究科, <sup>2)</sup>聖徳大学人文学部人間栄養学科)

17:25～17:55

口頭発表

座長：吉田宗弘（関西大学）

17:25～17:40 O-11 ミネラル（Na, K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Cu, Mn）の見かけの吸収量に及ぼす  
摂取量の影響

西牟田守\*<sup>1)</sup>，児玉直子<sup>2)</sup>，吉武 裕<sup>3)</sup>，島田美恵子<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>千葉県立保健医療大学，<sup>2)</sup>東京栄養食糧専門学校，<sup>3)</sup>鹿屋体育大学)

17:40～17:55 O-12 ビタミンKおよび関連栄養の摂取現状と食事摂取基準の問題点

木村美恵子\*，竿本新太郎，藤田裕子，今西雅代，武田厚子，武田隆久，  
吉川敏一

(タケダライフサイエンス・リサーチセンター(疾病予防センター)，  
ルイ・パストゥール医学研究センター)

17:55～18:00

閉会の辞

懇親会

# 特別講演

## こめトコリエノールの癌抑制作用

宮澤陽夫

(東北大学)

血管新生は既存の血管から新しい血管が形成される現象で、癌や糖尿病性網膜症などの発症と進展に深く関与することから、現在世界中で血管新生抑制のための食品成分、医薬品が探索されている。我々は、血管新生を抑制できる食品成分を培養血管内皮細胞試験でスクリーニングし、不飽和ビタミンEであるトコリエノールが強く血管新生を抑制することを発見した。ちなみに腫瘍血管はペリサイト（血管周皮細胞）の欠如により血管新生因子（とくにVEGF）の影響を受けやすい。

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）をこめに多いトコリエノール（tocotrienol）とともに培養すると、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）や繊維芽細胞増殖因子（FGF）などの血管新生促進因子により誘導されるHUVECの増殖や遊走、管腔形成がトコリエノールにより抑制される。この活性の強さは $\delta$ - $\rightarrow$  $\beta$ - $\rightarrow$  $\gamma$ - $\rightarrow$  $\alpha$ -トコリエノールであり、HUVECへの各トコリエノール異性体の移行量と正相関する。トコリエノールは、細胞外基質（コラーゲンIやフィブロネクチン、ラミニン）に対するHUVECの浸潤を抑制することによっても抗血管新生効果を発揮している。

管腔形成が進行中のHUVECに対し、トコリエノールは阻害効果を示すが、既に管腔様構造が形成したHUVECには影響しない。既存血管のような休止状態にある内皮細胞よりも、腫瘍血管に特徴的な未成熟血管のような活発な内皮細胞に対しトコリエノールは効果を発揮する。また、ある濃度以上のトコリエノールをHUVECに処理すると、活性酸素産生を介したHUVECのアポトーシスが見られる。

血管新生促進因子由来のシグナル伝達への影響では、HUVECへのトコリエノール処理により、PI3キナーゼ/Aktシグナルタンパクの活性化（リン酸化）の抑制が認められる。このPI3キナーゼ/Aktは、VEGF受容体（VEGFR）のチロシンキナーゼドメインの活性化を経て、リン酸化される。このパスウェイは血管新生（内皮細胞の増殖・遊走・管腔形成、および抗アポトーシス）に中心的な役割を担うため、このリン酸化抑制がトコリエノールの血管新生抑制に重要な役割を果たしていると考えられる。さらにシグナルの下流に位置するAktのターゲットタンパク（ERKや内皮型NO合成酵素（eNOS））のリン酸化もトコリエノールは制御する。ある濃度以上のトコリエノールをHUVECに処理すると、ストレス応答性タンパク（apoptosis regulated kinase(ASK-1)やp38）のリン酸化を介したアポトーシス実行因子（カスパーゼ3と9）の活性化が見られ、このことからトコリエノールの血管新生阻害におけるアポトーシスの寄与が明らかである。トコリエノールの作用点解析として、PI3キナーゼ/Aktの上流にあるVEGFRタンパクの活性を調べ、VEGFR2のリン酸化のトコリエノールによる抑制を認めた。Neoplastic+SA mouse mammary epithelial cellを用いた研究では、上皮系細胞増殖因子（EGF）受容体のリン酸化、およびEGF由来PI3キナーゼ/Aktシグナルの活性化を $\gamma$ -トコリエノールが抑制する。したがって、トコリエノールはVEGFRをはじめとする種々の増殖因子受容体に作用する可能性があり、このことと抗血管新生能の関係が興味深い。考えられる仮説として、トコリエノールは細胞膜に存在する受容体のリン酸化を抑制することから、細胞膜へ取り込まれる際に脂質膜二重層に揺らぎを与える、あるいは脂質ラフトに変化をもたらすなどして、細胞膜上の種々の増殖因子受容体に影響を与えている可能性がある。以上の結果をまとめると、トコリエノールは内皮細胞に作用し、血管新生促進因子に由来するVEGFRをはじめとする種々の増殖因子受容体のシグナル伝達の制御やアポトーシスの誘発を介して、腫瘍性の内皮細胞の増殖、遊走、管腔形成を抑制することで血管新生の阻害がなされると考えられる。

# 口頭発表

## O-1

### マウスにおけるケトン食摂取がビオチン欠乏に及ぼす影響

湯浅正洋\*, 松井朝義, 安藤沙織, 渡邊敏明

(兵庫県立大学大学院環境人間学研究所)

【目的】ビオチンは水溶性ビタミンの1つで、生体内ではカルボキシラーゼの補酵素として糖新生や脂肪酸合成に関与している。ビオチンが欠乏すると皮膚炎、脱毛症および神経障害が引き起こされる。現在使用されている治療用特殊ミルク（アミノ酸調製粉乳）にはビオチンが添加されていないため、乳児においてビオチン欠乏症が報告されている。ケトン食療法とは、難治性てんかん患者に用いられる高脂肪、低炭水化物の食事である。乳児を対象にしたケトン食療法では、「ケトンフォーミュラ（KF）（治療用特殊ミルク）」が用いられている。わが国では、調製粉乳へのビオチン添加ができないため、KFの使用においてもビオチンが欠乏することが懸念される。また、KFの栄養素組成が低炭水化物であるため、KF使用時に糖新生が亢進し、ビオチン必要量が増加する可能性が考えられる。そこで、本研究では、ケトン食がビオチン必要量にどのような影響を与えるかについて、マウスを用いて検討した。

【方法】4週齢雄マウスを対照群(C群)、ビオチン欠乏群(D群)、ケトン食群(K群)、ケトン食・ビオチン欠乏群(KD群)に分類して飼育した。飼育0、2、4、6、8週目に24時間尿を採取した。飼育9週目に屠殺し、試料として血清、肝臓、腎臓、精巣、脳を採取した。試料中のビオチン濃度の測定は *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を用いた微生物学的定量法、ビオチン依存性カルボキシラーゼの検出はウエスタンブロッティング法、肝組織の組織学的検査はHE染色で行った。

【結果および考察】D群において、飼育2週目以降では尿中ビオチン排泄量が低下し、屠殺時には血清および組織中ビオチン濃度が低下した。K群では、飼育9週目において、血清および組織中ビオチン濃度が低下した。KD群では、飼育5週目以降に顕著な脱毛症がみられ、ビオチン依存性カルボキシラーゼ発現量および肝臓グリコーゲン貯蔵量の著しい低下がみられた。このように、ケトン食によって、血清および組織中ビオチン濃度が低下し、脱毛症などの顕著なビオチン欠乏症状がみられた。以上のことから、ケトン食摂取時にはビオチン必要量が増加し、ビオチン栄養状態が十分でないとビオチン欠乏が早期に発症することが示唆された。

## O-2

### 日本酒中のD-アミノ酸の生成機構の解明

郷上佳孝<sup>\*1</sup>, 岡田かおり<sup>1</sup>, 森山昌和<sup>2</sup>, 溝口晴彦<sup>2</sup>, 老川典夫<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 関西大学・化学生命工, <sup>2</sup> 菊正宗酒造(株)総合研究所)

【目的】近年分析技術の進展に伴い、ヒトなどの哺乳動物の体内に遊離型D-アミノ酸が存在することが明らかにされ、その由来や生理的機能が注目されている。先にわれわれは日本酒中にはさまざまなD-アミノ酸が存在し、特に生酏（きもと）造りの日本酒中のD-アミノ酸濃度が高いことを見出した。本研究では、日本酒中のD-アミノ酸の生成機構を解明することを目的としている。

【方法】生酏、簡易生酏、速醸酏の仕込み二日目、膨れ前、戻し、上槽の各工程でサンプリングした液体と、玄米中に含まれるD-及びL-アミノ酸含有量を高速液体クロマトグラフィーで定量した。また生酏仕込みに関与する乳酸菌のD-アミノ酸生産とそれらの微生物のD-アミノ酸代謝関連酵素についても検討した。

【結果及び考察】アミノ酸分析の結果、生酏、簡易生酏、速醸酏の液体中には、いずれもD-Ala, D-Asp, D-Glu, D-Valが存在することが明らかとなった。しかし、これらのD-アミノ酸濃度は、醸造方法によって大きく異なり、例えば戻し工程における生酏、簡易生酏、速醸酏の液体画分中のD-Asp濃度( $\mu\text{M}$ )は、それぞれ173.5, 27.1, 1.0であった。またD-His, D-Argは生酏にのみ、D-Proは生酏と簡易生酏に含まれており、速醸酏には含まれていなかった。いずれの酏でもD-His, D-Arg, D-Proは戻しの工程で最も濃度が高くなることが明らかとなった。また生酏由来乳酸菌(*Lactobacillus sakei* NBRC 15893, *Leuconostoc mesenteroides subsp sake* NBRC 102481)のD-アミノ酸生産を検討した結果、*L. sakei* NBRC 15893はD-Ala, D-Glu, D-Aspを、*L. mesenteroides subsp sake* NBRC 102481はD-Ala, D-Gluを菌体外に生産していることが明らかとなった。さらにこれらの乳酸菌のゲノム中にコードされているアミノ酸ラセマーゼホモログは、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、リシン、ヒスチジンのラセミ化を触媒することが明らかとなった。したがって、生酏造りは、日本酒中のD-アミノ酸濃度を増加させる醸造方法であり、日本酒中のD-アミノ酸の多くは醸造に関与する乳酸菌によって生成することが明らかとなった。なお、本研究はイノベーション創出基礎的研究推進事業により実施したものである。

## O-3

### イメージングマスペクトロメトリーによるヒト腹部大動脈瘤の病理解析

財満信宏<sup>1)</sup>, 毛利陽平<sup>1)</sup>, 田中宏樹<sup>2)</sup>, 森山達哉<sup>1)</sup>, 河村幸雄<sup>1)</sup>, 海野直樹<sup>2)</sup>, 瀬藤光利<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 近畿大院・農・応生化, <sup>2)</sup> 浜松医大)

【目的】ヒト腹部大動脈瘤(abdominal aortic aneurysm:AAA)は、腹部大動脈の進行的な拡張を主病変とする疾患であるが、血管の拡張機構は明らかにされていない。本研究は、血管が拡張する機構を明らかにするため、イメージングマスペクトロメトリー (IMS) によるヒト AAA 組織解析を行った。

【方法】ヒト AAA 組織は外科手術により摘出されたものを使用した。採取した組織は液体窒素を用いて凍結した。クライオスタットを用いて 8 $\mu$ m の切片を作成し、ITO (Indium Tin Oxide) コートしたスライドガラス上に接着させた。マトリックスには DHB (2,5-Dihydroxy benzoic acid) 溶液 (50 mg/mL DHB in methanol/water (7/3, v/v)) を用いた。質量分析計は Nd:YAG レーザー (波長 355nm、周波数 200Hz) を搭載した Ultraflex II TOF/TOF (Bruker Daltonics) を使用した。動物実験は SD ラット(8 週齢、オス)を用いて行った。ヒトとラットの組織切片はヘマトキシリンエオジン(HE)、エラスチカファンギーソン(EVG)、オイルレッド O、ピクルシリウスレッド(PSR)、免疫化学染色によって病理を評価した。

【結果】IMS によるヒト AAA 組織の解析の結果、血管径が拡張した血管壁において虚血が生じていることが示唆された。虚血と血管径拡張の関係を明らかにするために、ラットの腹部大動脈に人工的に虚血を誘導した結果、コントロール群と比較して有意に虚血誘導群の血管径が拡張した。ヒト及び虚血誘導ラットの AAA 血管壁の病理染色の結果、両組織で同様の病理所見 (コラーゲンの構造の破綻、脂肪細胞の出現、中性脂肪の増加、PPAR $\gamma$  の発現、炎症亢進) が観察された。

【考察】ヒト AAA 病理解析と動物実験により、血管壁の虚血が AAA 形成の原因であることが強く示唆された。本研究で作出した虚血誘導ラットは、ヒト AAA モデルとして利用できると考えられる。

## O-4

### 脂肪細胞からのレジスチン分泌を抑制する食品成分の探索

若木泰子\*, 吉村征浩, 鶴澤有希, 財満信宏, 森山達哉, 河村幸雄

(近畿大院・農・応生化)

【目的】脂肪細胞は様々なホルモン様分子 (アディポサイトカイン) を分泌している。これらの分泌レベルの質的量的変化は生体全体での代謝や疾病発症に影響する。脂肪細胞が分泌しインスリン抵抗性や炎症などを引き起こす“悪玉”のアディポサイトカインとして、レジスチンが知られている。そこで本研究では、脂肪細胞からのレジスチンの分泌を抑制する微量食品成分の探索とその作用機構について検討した。

【方法】分化させたマウス 3T3-L1 脂肪細胞に被験物質を添加して経時的に培地および細胞全タンパク質を回収し、レジスチンの分泌量および細胞内のタンパク質発現量について調べた。ザクロ果汁抽出物 (PE) は濃縮ザクロ果汁より脱糖して調製した。また、PE に含まれる代表的な成分であるエラグ酸、プニカ酸などを同様に脂肪細胞に添加し、これら成分のレジスチンの分泌量および細胞内存在量に及ぼす影響を調べた。さらに、PE を高レジスチンモデル系である OVX マウスに経口的に投与し、血中のレジスチンレベルを測定した。

【結果と考察】様々な食品の抽出物や食品成分の中で、ザクロ果汁が脂肪細胞からのレジスチンの分泌を濃度依存的に減少させることを発見した。しかし、このときレジスチン遺伝子の発現量には変化がみられなかった。また、タンパク質合成阻害剤シクロヘキシミド (CHX) と PE を添加した場合の細胞内のレジスチンタンパク質存在量を検討したところ、CHX 対照群に対して有意な低下がみられた。また、エラグ酸についてもレジスチンの分泌量および細胞内のタンパク質存在量について同様の減少効果がみられた。以上の結果から、PE およびエラグ酸はレジスチンの分泌を抑制すること、及びこの作用にはレジスチンタンパク質の分解促進が関与することが示唆された。OVX マウスへの PE の経口投与によっても血中のレジスチン濃度は有意に低下した。

## 0-5

### マウスを用いた牡蠣抽出物の抗不安作用の検討

増澤 徹<sup>\*1, 3)</sup>, 松井博之<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>2)</sup>, 朝戸めぐみ<sup>3)</sup>, 池田弘子<sup>3)</sup>, 亀井淳三<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 株式会社新薬開発研究所, (<sup>2)</sup> 日本クリニック株式会社(株)・中央研究所, (<sup>3)</sup> 星薬科大学薬物治療学教室)

【目的】牡蠣は、グリコーゲン、脂溶性・水溶性ビタミン、亜鉛及びタウリンなど多くの栄養素を含有し、種々の生体への有効性や機能が報告されている。その一つとして、牡蠣抽出物が抗うつ作用などの神経精神系に対する作用を有する可能性が示唆されている。そこで、牡蠣抽出物の神経精神系に対する作用を明らかにする一環として、マウスを用いて不安の評価系で広く知られているホールボード試験法を用いて、牡蠣抽出物の抗不安作用を検討した。

【方法】実験には7週齢のICR雄性マウスを用いた。抗不安作用の検討はホールボード試験法を用いて評価した。マウスをホールボード試験装置に入れた直後から5分間における総行動距離、穴覗き（ヘッドディップ）回数、ヘッドディップ潜時、立ち上がり回数を計数した。マウスに牡蠣抽出物(日本クリニック株式会社提供)を150, 300および600mg/kgを単回経口投与後60分にホールボード試験を行った。また、牡蠣抽出物50, 100および150mg/kgを1日1回5日間反復経口投与し、最終投与の60分後にホールボード試験を実施した。

【結果と考察】牡蠣抽出物を単回投与した結果、いずれの測定項目にも変化は認められなかった。一方、5日間反復投与後にホールボード試験を行ったところ、ヘッドディップ潜時の用量依存性的かつ有意な短縮および有意ではないもののヘッドディップ回数の用量依存的な増加が認められた。しかし、総行動距離および立ち上がり回数には何ら影響が認められなかった。以上のことから、牡蠣抽出物には不安を緩和する作用を有する可能性が示唆された。

## 0-6

### かき抽出エキス含有食品の12週間摂取による肝機能への影響

竹原 功<sup>\*1)</sup>, 矢野夕幾<sup>1)</sup>, 松井博之<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>2)</sup>, 福原育夫<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 株式会社新薬開発研究所, (<sup>2)</sup> 日本クリニック株式会社(株)・中央研究所, (<sup>3)</sup> 福原医院)

【目的】牡蠣は、グリコーゲン、脂溶性・水溶性ビタミン、亜鉛及びタウリンなど多くの栄養素を含有し、また種々の生体への有効性や機能が報告されている。我々は、牡蠣における種々の報告に着目し、真牡蠣を原材料としたかき抽出エキス(日本クリニック株式会社提供)について、軽度アルコール性肝障害の成人男女20名を対象として、12週間摂取した際の肝機能への影響について評価を行った。

【方法】試験の内容を理解した上で参加に同意した志願者に対して、スクリーニング検査、アルコール摂取に関するアンケート、理学的検査、問診を行い、肝機能指標の上限が軽度に逸脱し、適格と判断された20~69歳の男女合計20名を被験者とした。評価は、オープンテストで行った。かき抽出エキスは、朝昼夕食前に各4粒、12週間継続摂取させ、摂取初日、摂取開始4, 8および12週間目に検査を行った。

【結果と考察】被験者の背景は、男性14名(36~63歳)、女性6名(37~63歳)、AST(GOT) 45.1±18.9 U/L, ALT(GPT) 63.0±32.1 U/L、 $\gamma$ -GTPで男性206.5±148.6, 女性234.2±318.6 U/Lあった。12週間の摂取の結果、ALT, ALP,  $\gamma$ -GTP(男性)において、摂取開始前と比較して有意な低下が認められた。LDHにおいては、低下傾向が認められた(p<0.1)。ASTにおいては、基準値内への低下が認められた(37.6±18.3 U/L)。また、12週間摂取後の血液学的検査結果、血液生化学的検査結果、尿検査結果、診察結果では、食品の有害性を示す知見及び有害事象も認められなかった。以上の結果より、かき抽出エキス含有食品は、1日12粒の12週間継続摂取をすることにより、アルコール摂取による軽度肝障害者における肝機能改善効果を有することが示された。

## 0-7

### カキ肉廃棄物の摂取がラットの血清及び肝臓脂質濃度に及ぼす影響

細見亮太<sup>1)</sup>, 野田晴嵩<sup>2)</sup>, 松田芳和<sup>3)</sup>, 西山利正<sup>4)</sup>, 福永健治<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 鳥取短期大学 生活学科 食物栄養専攻, <sup>2)</sup> 関西大学 化学生命工学部 生命・生物工学科,

<sup>3)</sup> 日本クリニック株式会社(株)・中央研究所, <sup>4)</sup> 関西医科大学 公衆衛生学講座)

【目的】カキは「海のミルク」と称され、栄養成分が豊富なことはもちろん、グリコーゲン、タウリンなど様々な機能性成分が含まれている。このため栄養・機能性成分を抽出、濃縮したカキ肉エキスが販売されている。一方、エキス抽出後に残るカキ肉残渣は廃棄物として処理されている。カキ肉残渣には、カキ肉の主成分であるタンパク質が高濃度に残存しており、水産物由来タンパク質と同様に生活習慣病の予防効果を有することが期待される。本研究ではカキ肉エキス抽出後の残渣の有効利用を行う目的で、摂取に伴う血清および肝臓脂質成分に及ぼす影響についてラットを用いて検討した。また人工消化により各餌料の消化性を評価した。

【方法】<動物実験> 試験餌料はAIN93G (カゼイン群) と、AIN93G のタンパク質源を餌料 1 kg に対してカキ肉残渣に 50 g 置換した群 (カキ肉残渣群) の 2 群を設定した。5 週齢 Wistar 系雄性ラットを用い、試験餌料および水は自由摂取とした。また飼育最終前 7 日間、一日毎に糞を採取した。31 日間飼育後、常法により採血し、血清および肝臓を得た。<人工消化実験> カゼイン、カキ肉残渣群餌料の消化分解物の人工消化率と不溶性消化物生成量について検討した。

【結果と考察】カキ肉残渣摂取により肝臓コレステロール濃度の低下、糞へのコレステロール・総胆汁酸・タンパク質排出量の増加がみられた。カキ肉残渣群の糞へのタンパク質排出量の増加からカキ肉残渣は消化されにくいと考えられる。さらに人工消化ではカキ肉残渣群餌料で消化率が低く、不溶性消化物生成量が高かったことから、カキ肉残渣には難消化性タンパク質が多く含まれていると考えられる。カキ肉残渣の摂取により、小腸でのコレステロール吸収と胆汁酸再吸収抑制による肝臓コレステロール濃度の低下が確認された。

## 0-8

### カンボジアにおける鉄強化魚醤および醤油の市場投入による貧血改善効果

中西由季子<sup>1, 2)</sup>, Juliet Cadungog-Uy<sup>3)</sup>, Sol Sowath<sup>3)</sup>, Koum Kanal<sup>4)</sup>, Buth Sokhal<sup>5)</sup>,

高梨久美子<sup>2)</sup>, 戸上貴司<sup>2)</sup>, and Theary Chan<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 甲子園大学, <sup>2)</sup> ILSI Japan, <sup>3)</sup> RACHA, Cambodia, <sup>4)</sup> NMCHC, Cambodia, <sup>5)</sup> NIPH, Cambodia)

【背景】多くの発展途上国と同様にカンボジアにおいても、貧血は公衆栄養上の大きな課題である。2010 年に行われた国民健康調査の結果、5 歳未満の子供の 55%ならびに妊娠可能年齢の女性の 44%が貧血であることが報告されており、これまでの栄養教育やサプリメントなどによる貧血対策が効果を発揮していないことが推察される。

【目的】本研究では、カンボジアにおける主要な調味料であり、すでに日常的な摂取により貧血改善効果が認められた鉄強化魚醤および醤油の市場投入による地域の貧血有病率に及ぼす影響を調べた。

【方法】カンボジアでは、国内の流通経路が未だ十分に発達していないことから、地域によって食生活習慣が異なるであろう事は容易に推察できる。我々は、北部の内陸地域であるシェムリアップ県と南部の海岸地域であるカンポット県に着目し、住人を年齢および性別に合計 6 つのカテゴリー (5 歳未満、5-14 歳、15-49 歳妊娠していない女性、15-49 歳男性、50 歳以上女性、50 歳以上男性) に分類し、各カテゴリー毎に無作為に抽出した合計 4402 名 (2007 年) および 4313 名 (2009 年) を対象者として、貧血の有病率を調査した。魚醤および醤油は、エチレンジアミン四酢酸鉄化合物を用いて 40 mg Fe/100 ml の鉄強化魚醤および鉄強化醤油を製造し、村の市場や商店などを通じて 24 ヶ月間販売した。この間、対象地域の住民全体に対して、鉄強化魚醤・醤油についての栄養教育も平行して行った。地域間の有病率について、カイ二乗検定を行った。

【結果・考察】カンボジアにおいて、高齢者も貧血の有病率が高く、子供や女性だけの公衆栄養上の課題ではないことが明確になった。県都のある地区よりも郊外の地区のほうが有病率が高く、カンポット県よりもシェムリアップ県のほうが有病率が高かった。有病率の地域差に関する要因については、食事調査などによる解析が必要であると考えた。24 ヶ月間の販売の結果、カンポット県及びシェムリアップ県の 5-14 歳およびシェムリアップ県の 50 歳以上の女性の有病率が低下した。日常的な鉄強化魚醤および醤油の摂取について研究チームの管理下に置かれていない一般住民の市販製品の購入及び使用によって、地域の貧血有病率が低下していることは、非常に意義のある結果であると考えた。

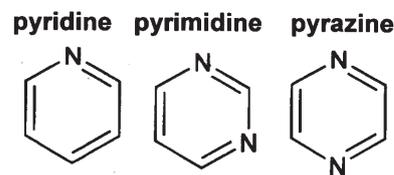
## O-9

### ピリジン、ジアジンカルボン酸誘導体の金属イオンを介した活性酸素生成機構

村上恵子\*, 細川好孝, 吉野昌孝

(愛知医大・医・生化)

六員環の芳香族複素環化合物は金属イオンとの相互作用を介して多様な生物活性を発揮する。1 個の窒素原子をもつピリジン、2 個の窒素を有するジアジンとしてオルト位置の窒素のピリダジン、メタ位置のピリミジン、パラ位置のピラジン化合物が存在する。ピリミジンはヌクレオチド塩基として全ての生物に共通に存在するが、ピラジンも多く食品中に分布している。ピリジン誘導体はそのキレート作用を応用して多くの薬剤に利用されている。今回、カルボン酸を持つ含窒素複素環化合物として生体に分布するピリミジン、ピラジンが遷移金属との共存下で活性酸素の生成能をアコニターゼの失活を指標としてピリジン化合物と比較検討した。



【方法】透過性パン酵母においてピリジン、ジアジンカルボン酸化合物/鉄により活性酸素に最も感受性の高いアコニターゼの失活を指標として、活性酸素生成能の評価とした。また鉄の自動酸化に対する促進効果の測定により鉄キレート複合体と酸素分子との反応を評価した。

【結果】1. 50  $\mu$ M Fe<sup>2+</sup>, 1mM NaN<sub>3</sub>, 1mM KCN 存在下においてピリジンカルボン酸(ピコリン酸、キノリン酸、ジピコリン酸)は強力なアコニターゼ失活作用を示し、活性酸素の生成を示唆した。ピラジン-2,3-ジカルボン酸、ピリミジン構造のオロト酸はピリジン化合物に比べて弱い失活作用を示した。

2. 2 価鉄イオンの自動酸化に対してピリジン化合物のジピコリン酸は強力な促進作用を示した。ピリジン化合物でもピコリン酸、キノリン酸は殆ど作用を示さず、またピラジン化合物とオロト酸も効果を示さなかった。

【考察】遷移金属存在下におけるピラジン、ピリミジン化合物の活性酸素生成能はピリジンよりはるかに弱く、環状構造における窒素原子の存在に影響されることがキノリン酸 $\leftrightarrow$ ピラジン-2,3-ジカルボン酸、ピラジン-2-カルボン酸、オロト酸 $\leftrightarrow$ ピコリン酸の比較から明らかとなった。ピラジン化合物の活性酸素生成能は必ずしも強力ではないが、多くの食品に含まれ、また動物実験においてタバコの煙中のピラジンが卵巣機能に障害を与える報告などからピラジンの細胞毒性には活性酸素生成能との関連が想定される。

## O-10

### 小麦胚芽中亜鉛の生体利用性

横井克彦<sup>1, 2)</sup>, 古川由梨<sup>2)</sup>, 高橋美貴<sup>2)</sup>, 吉村有希子<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 聖徳大学大学院 人間栄養学研究科, <sup>2)</sup> 聖徳大学 人文学部 人間栄養学科)

【目的】亜鉛欠乏は世界で最も多い栄養性疾患の一つであり、成長障害、味覚障害、免疫能低下、認知能低下など多彩な病態を呈する。亜鉛欠乏克服のためには、生体利用性の高い亜鉛を豊富に含む食品を探索する必要がある。小麦胚芽は鉄および亜鉛に富む食品である。昨年度の本学会において小麦胚芽中の鉄の生体利用性について報告した。今回は、ラットの成長量を指標として小麦胚芽中亜鉛の生体利用性を検討した。

【方法】Wistar 系 3 週齢雄ラット 51 匹を用いて実験に供した。6 匹には亜鉛欠乏飼料を与え、残りの 45 匹には、各々亜鉛レベルを 3、6、9、12、18 mg/kg に設定した硫酸亜鉛、未処理小麦胚芽、またはフィターゼ処理小麦胚芽を亜鉛源とした飼料を与えた。飼育前と 15 日後に体重を測定し、体重増加量を求めた。小麦胚芽は米国産小麦を用い、重量比 0.1% の比率でフィターゼ(スミチーム PHY、新日本化学工業株式会社)を混合し、45℃で 1 時間反応させた後、60℃で熱風乾燥した。フィチン酸は(財)日本食品分析センターで分析した。飼料中亜鉛濃度と体重増加量との関係を、累積標準正規分布関数で表したシグモイド曲線に当てはめ、体重増加量の最大幅の半値を与える飼料中亜鉛濃度(最大半量、half-maximum dose)を求め、生体利用性の指標とした。データ解析には SYSTAT ソフトウェアを用い、危険率 5%未満を有意とした。

【結果】実験に使用した小麦胚芽中亜鉛含有量は、未処理のものが 116 mg/kg であった。最大半量は、硫酸亜鉛では 3.49 $\pm$ 0.33 (estimate $\pm$ ASE) mg Zn/kg、未処理小麦胚芽では 3.52 $\pm$ 0.26 mg Zn/kg、フィターゼ処理小麦胚芽では 3.72 $\pm$ 0.40 mg Zn/kg であった。また、最大半量の間には有意差はなかった。フィチン酸の含量は、未処理胚芽が 2.6(w/w)%、フィターゼ処理胚芽が 1.3(w/w)%であった。

【考察】成長における飼料中亜鉛濃度の最大半量を亜鉛の生体利用性の指標とすると、小麦胚芽と硫酸亜鉛の生体利用性はほぼ同等であった。昨年報告したように小麦胚芽中鉄の生体利用性は硫酸第一鉄の半分強程度であり、小麦胚芽中の亜鉛と鉄の挙動は異なっていると考えられる。

## O-11

### ミネラル(Na, K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Cu, Mn) の見かけの吸収量に及ぼす摂取量の影響

西牟田守<sup>1)</sup>, 児玉直子<sup>2)</sup>, 吉武 裕<sup>3)</sup>, 島田美恵子<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 千葉県立保健医療大学, (<sup>2)</sup> 東京栄養食糧専門学校, (<sup>3)</sup> 鹿屋体育大学)

【目的】ミネラル出納を維持する摂取量(EEDI)に関し、出納実験を解析して報告した(JNSV 58, 2012)。その結果、出納維持に対する摂取量(Intake)の寄与率は必ずしも大きくはなく、他の因子が出納に関与することが示唆された。そこで、見かけの吸収量(AA)に注目し、AA に及ぼす Intake および見かけの吸収率(AA%)の関係について検討した。

【方法】国立健康・栄養研究所で実施した、延べ 178 名を対象とした 18 回の出納実験のうち、食塩制限食やタンパク質制限食を用いた実験を除く、日本人青年女子 131 名を対象に実施した 13 回の出納実験を解析した。AA は Intake から糞便中排泄量を差し引いた値、AA%は AA を Intake で除した値とした。また、Intake と AA%との関係も検討した。数値は (平均値±標準偏差) で示す。

【結果】ミネラルの AA, Intake, AA%, および、AA と Intake, AA%の相関係数( $r^2$ )を Table 1. に示した。AA%が比較的一定な Na, K, P では、AA は Intake との相関が強いが、その他のミネラルでは、AA%が AA と強く相関した。また、K と P は AA と AA%との相関も有意であった。

【考察】ミネラルの栄養状態を良好に保つには、Intake を確保するとともに、吸収量を保つことが必要である。比較的 AA%が一定な Na, K, P では、摂取量を確保することで、吸収量が確保されやすいと考えられるが、Cu を除く他の元素では、AA%を確保することが重要となる。このうち、腎臓と消化管が主な排泄経路となる Ca と Mg は尿中排泄が過不足を反映すると考えられるので、尿中排泄の把握が栄養管理上重要と考えられる。しかし、Fe, Zn, Mn の排泄経路は消化管であり、Intake を確保するとともに、吸収量と消化管への排泄量の動的平衡を常に保つ (AA%を正に保つ) 手段を開発、実行することが今後の課題である。

Table 1. Relationship between AA and Intake, and, AA and AA%

	Unit	AA	Intake	$r^2$	AA%	$r^2$
		(Mean ± s.d.)	(Mean ± s.d.)		(Mean ± s.d.)	
Na	mg/kgBW/d	66 ± 9	68 ± 10	0.98	98 ± 2	0.01
K		34 ± 7	41 ± 7	0.88	84 ± 6	0.24
Ca		2.6 ± 1.8	11.0 ± 2.8	0.12	24 ± 14	0.77
Mg		1.8 ± 0.5	4.2 ± 0.8	0.29	43 ± 10	0.48
P		12.6 ± 2.7	18.6 ± 3.5	0.71	68 ± 8	0.21
Fe	ug/kg BW/d	31 ± 29	180 ± 49	0.10	47 ± 15	0.86
Zn		24 ± 24	182 ± 82	0.02	14 ± 15	0.90
Cu		6 ± 11	33 ± 11	0.42	12 ± 31	0.91
Mn		0 ± 8	55 ± 8	0.06	-1 ± 17	0.99

AA: apparent absorption

Unit: mg (mcg)/ kg body weight/ d

## O-12

### ビタミン K および関連栄養の摂取現状と食事摂取基準の問題点

木村美恵子\*, 竿本新太郎, 藤田裕子, 今西雅代, 武田厚子, 武田隆久, 吉川敏一

(タケダライフサイエンス・リサーチセンター (疾病予防センター), ルイ・パストゥール医学研究センター)

これまでの日本人国民・栄養調査結果 (算出データベース 1982 年四訂日本食品標準成分表) からミネラルのうち唯一カルシウムが摂取不足であると注目されて久しく、骨粗鬆症の原因として、より多いカルシウム摂取が推奨されている。2000 年日五訂日本食品標準成分表に改訂され、ミネラル、ビタミンについても若干の項目が追加され、栄養調査においてもこれらの項目が追加されるようになった。他方、栄養素の摂取基準として、1970 年日本人の栄養所要量が公表されて以来、6 回改定を重ね、日本人の食事摂取基準 2005 年版、現在は 2010 年版にと細々改定されてきている。このような中で、食事摂取基準を基に、これら栄養素摂取の過不足が大きく啓蒙され、栄養補助食品の氾濫など、庶民の食生活に混乱がもたらされている。今回、栄養摂取不足者が多いとされている大学生女子の食生活調査および国民健康・栄養調査結果 (20-29 歳女子及び総数) から、カルシウムを中心に、マグネシウム、リン、亜鉛、ビタミン D、ビタミン K の摂取状況および日本人の食事摂取基準に対する過不足、また、各種栄養素、各食品群との相関なども検討した。改めて、安定した高精度の食事摂取基準値策定が望まれる。

# ポスターセッション

## P-1

### 日本人成人女性ビーガンのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量の評価

湯川法子<sup>\*1)</sup>, 細見亮太<sup>2)</sup>, 福永健治<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 関西大学 化学生命工学部 生命・生物工学科, <sup>2)</sup> 鳥取短期大学 生活学科 食物栄養専攻)

【目的】ビタミン B<sub>12</sub> は、シアノコバラミン、メチルコバラミン等の化合物の総称であり、欠乏により悪性貧血、神経障害が起こることが知られている。また、植物性食品にはほとんど含まれておらず、魚介類、肉類、卵類、乳類などの動物性食品が供給源である。このため、あらゆる動物性食品の摂取を避け、穀類、豆類、種実類、野菜、果物などの植物性食品のみで食事を構成しているビーガンではビタミン B<sub>12</sub> の摂取不足が指摘されている。本研究では、日本に在住する成人女性ビーガンのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量を陰膳法による実測値にもとづき評価した。

【方法】日本に在住する女性ビーガン 11 名 (30~49 歳) から 3 日分の食事 (合計 33 食) を収集した。各食事を凍結乾燥後、ミルで均一、細粉化し測定用試料とした。ビタミン B<sub>12</sub> の測定は *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* ATCC7830 を用いた微生物学的定量法を用い、アルカリ耐性因子による補正を行った。

【結果と考察】測定したビーガン食からの 1 日あたりのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量 (中央値と範囲) は、54 ng (0~375 ng) であった。食事摂取基準 2010 年版では、30~49 歳女性のビタミン B<sub>12</sub> 摂取量の推定平均必要量 2.0 μg、推奨量 2.4 μg が設定され、また平成 22 年国民健康・栄養調査結果における 30~49 歳女性のビタミン B<sub>12</sub> 摂取量は平均 4.8 μg である。これらの結果より、ビーガン食からのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量は極めて低いことが明らかになった。今後ビーガンのビタミン B<sub>12</sub> 摂取の改善方法の検討が必要である。

## P-2

### 成人女性における葉酸摂取と血清葉酸量との関連についての検討

松本希美<sup>\*1, 2)</sup>, 溝畑秀隆<sup>1)</sup>, 渡邊敏明<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 神戸松蔭女子学院大学, <sup>2)</sup> 兵庫県立大学)

【目的】近年、若い女性の間ではやせ願望が強くなっている傾向がある。特に、妊娠前後に必要な葉酸が不足し、胎児の神経管閉鎖障害の発症リスクが高くなることが危惧されている。葉酸は、緑黄色野菜や果物に多く含まれている水溶性ビタミンである。遺伝情報をつかさどる細胞内の核酸の生成に関わっている。しかし、わが国では、女性において葉酸の摂取量が低いことが指摘されている。そこで、妊娠可能な女性を対象に血中の葉酸量および葉酸摂取について検討した。

【対象者および実験方法】神戸市内の大学に通学している女子学生 29 名、(平均年齢 20.0±0.9 歳)、および社会人女性 63 名 (28.0 ±5.0 歳) を対象に、調査は 2008 年から 2010 年に実施した。対象とした人から採血をし、同時に食物摂取頻度調査を実施した。である。葉酸の分析には定量用菌として乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* NBRC No.3425 を用いた。また葉酸の摂取量は、日本人の食事摂取基準 (2010 年版) を利用した食品群別計算法で算出した。

【結果および考察】女子学生の血中葉酸値は、2008 年 1 月 0.44 ng/ml、3 月 0.6 ng/ml、5 月 0.58 ng/ml、8 月 0.43 ng/ml であり、すべての時期において基準値より低い傾向がみられた。葉酸の一日あたりの摂取量は、女子学生 194 μg/日、社会人女性 221 μg/日であり、日本人の食事摂取基準 (2010 年版) 示されている。葉酸の推定平均必要量 200 μg/日と比較すると、大きな差はなかった。緑黄色野菜の摂取量は、女子学生 46g/日および社会人女性 59g/日であり、国民健康栄養調査の平均値 73g/日 (20 から 29 歳) と比較すると、少ない傾向であった。緑黄色野菜の摂取量と葉酸の摂取量に相関 (r=0.79) みられたことから、葉酸を増加させるには、緑黄色野菜の積極的な摂取が重要であると示唆された。また、妊娠可能な女性において葉酸摂取の意識を高めることも必要である。

## P-3

### ノダフジ(*Wisteria floribunda*)種子に含まれる抗糖尿病因子の探索

菊永竜太郎<sup>\*1)</sup>, 井上朋世<sup>1)</sup>, 山田敬博<sup>1)</sup>, 太田伸二<sup>1,2)</sup>, 河内浩行<sup>1)</sup>

(1) 長浜バイオ大学・バイオサイエンス, (2) 広島大院・生物圏

【目的】現在、肥満に伴う糖尿病、高血圧や脂質異常症の患者数は増加の一途で、これらメタボリックシンドロームと総称される疾患に対する治療薬の開発は非常にホットな分野である。それらの疾患に対する治療薬のターゲットのひとつとして、リガンド依存性の核内転写因子である PPAR $\gamma$  が存在する。この PPAR $\gamma$  は主に脂肪組織で発現し脂肪細胞の機能維持に関与する転写因子であり、そのリガンドであるチアゾリジン系薬剤は抗糖尿病薬として用いられている。これまでの報告で、ハーブ等の植物由来成分に PPAR $\gamma$  を活性化させる因子が見出されている。そこで本研究では様々な植物種子をターゲットにし PPAR $\gamma$  の活性化因子の探索を、ルシフェラーゼアッセイ法を用いて検討した。

【方法】PPAR $\gamma$  リガンド依存性ルシフェラーゼ活性を持つプラスミドをトランスフェクトした COS7 細胞の培地に、様々な植物種子のメタノール抽出物を添加し、PPAR $\gamma$  活性化能を測定した。また、この PPAR $\gamma$  転写活性化能を有する画分を 3T3-L1 脂肪前駆細胞の培地に添加し、培養終了時に脂肪細胞分化の指標であるトリグリセリド (TG) 濃度を測定した。さらに、リガンドスクリーニングでの活性を指標としカラムクロマトグラフィー等での分画を繰り返すことにより活性成分を単離し、その活性成分の化学構造を MS や NMR 等により同定した。

【結果と考察】様々な植物種子のメタノール抽出物を PPAR $\gamma$  レポーターアッセイによりスクリーニングした結果、マメ科フジ属のノダフジ(*Wisteria floribunda*)種子のメタノール抽出物が PPAR $\gamma$  活性化能を示した。このメタノール抽出物を、ヘキサン、酢酸エチルおよび水の各可溶性画分に分配し活性試験を行ったところ、酢酸エチル可溶性画分に強い活性が見られた。この画分を 3T3-L1 脂肪前駆細胞の培地に添加すると、分化の指標である TG 濃度が有意に上昇した。以上の結果、この酢酸エチル可溶性画中に PPAR $\gamma$  の活性化因子が含まれていることを強く示唆する結果となった。さらに、この画分についてシリカゲルや ODS カラムクロマトにより分画精製を行った。その結果、イソフラボン配糖体 Wistin やイソフラバン Isomucronulatol が得られ、これらは単独でも PPAR $\gamma$  活性化能を示した。

## P-4

### フッ素水投与後による HIGA マウス及び BALB/c マウスの尿中タンパクとクレアチニンへの影響

木戸尊将<sup>\*1,2)</sup>, 角田正史<sup>1)</sup>, 菅谷ちえ美<sup>1)</sup>, 柳澤裕之<sup>2)</sup>, 相澤好治<sup>1)</sup>

(1) 北里大学医学部衛生学, (2) 東京慈恵会医科大学医学部環境保健医学講座)

【目的】フッ素は普遍的に存在する元素であり、食物中に含まれており必須微量元素ともされている。一方で、環境汚染物質として知られており栄養素としての位置づけには議論があるところである。フッ素の微量栄養素としての可能性を考えるに辺り、まずその毒性を考慮しなければならない。フッ素は腎臓から排出されるが故に、腎臓に障害がある場合には毒性が強まる可能性がある。そこで、我々は慢性腎不全の中で最も多いとされている IgA 腎炎に着目した。本研究では IgA 腎炎モデルマウス(HIGA マウス)を利用し、フッ素の毒性が HIGA マウスの尿中タンパクとクレアチニンにどのように影響するかを調べることを目的とした。

【方法】HIGA マウス(10 週令:雄)と腎機能正常対照として BALB/c マウス(10 週令:雄)を用いた。曝露濃度についてはフッ素含有水を 0, 50, 100, 150ppm で 4 週間曝露し、週に 2 回の体重測定を行った。また週に 1 回代謝ケージにマウスを入れ、24 時間尿の採取を行った。その後、採取した尿を生理食塩水で希釈し、Bradford 法で尿中タンパクの定量を行った。尿中クレアチニンについては SRL 社に測定を依頼した。群間の比較を一元配置分散分析及び Student-Newman-Keuls 法で比較した。

【結果】最終体重と尿中タンパクに関しては、HIGA マウスと BALB/c マウスは有意な変化は示さなかった。尿中クレアチニンに関しては、HIGA マウスで代謝ケージ最終日の尿中クレアチニンがフッ素曝露群は 0ppm 群より低い結果となった。BALB/c マウスについては有意な変化は示さなかった。

【考察】本研究のフッ素曝露濃度において HIGA マウスの最終体重と尿中タンパクに有意な変化が起こらなかった。以上からこの週令の IgA 腎炎マウスにフッ素を投与しても体重減少が起こらないことが示唆された。また尿中タンパクも有意な変化は示さなかった。尿中クレアチニンについては、150ppm 群で有意に低い結果となったことから、フッ素の毒性によって体中のクレアチニンが減少し、尿中に排出されるクレアチニンが減少した可能性も考えられる。腎機能低下モデルとして HIGA マウスを用いるには、週令が進み腎炎が進行した動物で行う必要があるかもしれない。

## P-5

### マグネシウム欠乏がラットのモリブデン代謝に及ぼす影響

金 己鉉<sup>\*1)</sup>, 井口英里華<sup>1)</sup>, 舟場正幸<sup>1)</sup>, 吉田宗弘<sup>2)</sup>, 松井 徹<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 京都大学農学研究科・動物栄養科学, <sup>2)</sup> 関西大化学生命工学部・食品工学)

【目的】ラットにおいてモリブデンは過剰給与時でもその臓器中濃度は一定に保たれることが知られている。一方、我々はマグネシウム(Mg)欠乏ラットでは肝臓中モリブデン濃度が上昇することを見いだしている。昨年、ヒトのモリブデン酸トランスポーターとして MOT2 が同定され、MOT2 は細胞へのモリブデン酸取り込みを促進することが明らかになった。ヒトにおいて MOT2 は *MFS5* (Major facilitator superfamily domain containing 5) として知られていた遺伝子であり、EST プロファイルによって、消化管、神経系、皮膚、肝臓、腎臓など多くの組織でその発現が認められている。本試験では、Mg 欠乏がラットのモリブデン代謝ならびに肝臓における MOT2 発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】4 週齢の SD 系雄ラットに AIN-93G 飼料を基本とした対照飼料(Mg 含量 513 mg/kg)、または Mg 欠乏飼料(Mg 含量 41 mg/kg)を給与した。飼料給与開始 24 日目から 28 日目までの糞と尿を採取するとともに、28 日目に血漿、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉を採取し、ICP-MS によりモリブデン濃度を測定した。また、肝臓における MOT2 発現をリアルタイム qRT-PCR によって測定した。

【結果および考察】先行研究と同様に Mg 欠乏によって肝臓ではモリブデン濃度が上昇した。一方、Mg 欠乏は血漿、腎臓、脾臓、筋肉中のモリブデン濃度には影響を及ぼさなかった。また、モリブデンの見かけの吸収と尿中排泄には Mg 欠乏の影響は認められなかった。したがって、Mg 欠乏は肝臓特異的にモリブデン濃度を上昇させることが明らかになった。Mg 欠乏はラット肝臓における MOT2 発現を抑制した。藻類であるクラミドモナスでは、培地中モリブデン酸の濃度に応じて MOT2 発現が変化するとともに、MOT2 がモリブデン酸耐性に関与していることが示されている。したがって、Mg 欠乏時に肝臓で認められた MOT2 発現減少は、肝臓中モリブデン濃度上昇への適応であり、肝臓のモリブデン酸取り込みを部分的にはあるが抑制している可能性が考えられた。本試験では、Mg 欠乏が肝臓中モリブデン濃度を上昇させるメカニズムは明らかにならなかった。Mg 欠乏は、ラットの肝臓において未知のモリブデン酸トランスポーター発現調節を介して、肝臓中モリブデン濃度を上昇させることが考えられた。

## P-6

### 糸状菌分泌物がアイスプラントのピニトール生合成遺伝子の発現に与える影響

斎藤茂樹<sup>\*1)</sup>, 山野孝太郎<sup>1)</sup>, 谷 泰史<sup>1)</sup>, 早川 真<sup>2)</sup>, 辻 昭久<sup>2)</sup>, 三原久明<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 立命館大・生命科学, <sup>2)</sup> 日本アドバンストアグリ)

【目的】アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum*) はハマミズナ科 (*Aizoaceae*) の一年生草木で、独特な食感・食味を持ち、栄養価も高いことから高級食材として近年注目されている。アイスプラントは通常 C3 型光合成を行うが、乾燥ストレスや塩ストレスによりベンケイソウ科型酸代謝 (Crassulacean Acid Metabolism, CAM) を誘導し、C3 植物が生育できない条件下でも生育できる。CAM 化したアイスプラントは、昼間は気孔を閉じて水分の蒸発を防ぎ、夜間は気孔を開いて呼吸を行う。これにより大気中の二酸化炭素をリンゴ酸のカルボキシ基として固定し、液胞中に蓄積する。その結果、酸味が増し、また矮化も生じるため、商品価値が損なわれる。一方で、CAM 化により血糖値調整作用を持つピニトール等が増加することが知られており、CAM 化を促進することで、アイスプラントの機能性食品としての価値を高めることが期待できる。本研究では CAM 化抑制・促進物質の探索を目指し、アイスプラント葉内のリンゴ酸の増減を指標に、糸状菌分泌物がアイスプラントの CAM 化とピニトール生合成に与える影響について調べた。

【方法】アイスプラント種子は次亜塩素酸処理を行い、無菌的に Murashige-Skoog (MS) 培地に播種した。播種から 4 週間後 5% (v/v) 糸状菌培養上清を含む MS 培地に移し替え、さらに 4 週間培養した。糸状菌培養上清は、YPG 培地で 8 日間 30°C で振盪培養した *Aspergillus oryzae*, *Nectria gracilipes*, *Rhizopus* sp. の培養上清を 0.45 μm フィルターで濾過したものをそれぞれ用いた。

【結果・考察】*A. oryzae* 培養上清で処理したアイスプラントにおいて顕著に CAM 化が促進された表現型が観察された。葉にリンゴ酸が蓄積されると予想される夜明け前と、葉のリンゴ酸が減少すると予想される日没直前に葉を回収し、内生リンゴ酸量を測定したところ、*A. oryzae* 培養上清処理区でリンゴ酸の蓄積が確認された。また、ピニトール生合成遺伝子 (*Imt*) の発現を半定量的 PCR で解析した結果、対照区と異なる発現パターンを示したことから、ピニトール生合成が CAM とは異なる機構で制御されている可能性が示唆された。

## P-7

### アルギニン応答性インスリン分泌機構におけるビオチンの作用部位について

曾根英行<sup>\*1)</sup>, 神山 伸<sup>1)</sup>, 古川勇次<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 新潟県立大・健康栄養, <sup>2)</sup> 東北大院農・栄養)

【目的】ビオチンはグルコース刺激に対する正常なインスリン分泌能力を維持する上で重要な役割を果たす因子であり、その作用部位は分泌機構中のミトコンドリアでの ATP 生成系よりも上流と考えられている。しかし、グルコースと共に代表的な刺激剤であるアルギニンでの作用に関しては詳細な検討がなされていない。本研究では、ビオチン欠乏ラットを作成し、アルギニン応答性インスリン分泌におけるビオチンの影響とその作用部位について検討を行った。

【方法】実験動物には Wistar 系♂3 週齢ラットを用い、乾燥卵白 20%を含むビオチン欠乏食で飼育した。実験群は、飼育期間の違いにより欠乏状態の異なる 3つのビオチン欠乏群 (4W-def, 6W-def, 8W-def) を設定し、それぞれの対照群には 4日に一度 100 $\mu$ g のビオチンを腹腔内投与した。単離膵灌流は、常法に従い膵臓を摘出し、1分間に 1.8mL の流速で行った。刺激溶液には、L-arginine に加え、NO を生成しない N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME) と代謝を受けない D-arginine を用いた。インスリン濃度は、ラジオイムノアッセイキット (塩野義製薬) を用いて測定した。

【結果と考察】対照群では、L-arginine に対し L-NAME と D-arginine でインスリン分泌量が減少傾向にあった。先行研究である単離膵島や膵 $\beta$ 細胞株の結果と異なり、単離膵灌流では膵島内微小循環系が反映されるため、L-arginine の代謝過程で生成される NO が膵島内血流量を増加させインスリン分泌に影響を与えたものと考えられる。一方、4W-def では D-arginine においてインスリン分泌量の有意な減少が認められ、6W-def と 8W-def では全ての刺激において顕著な低下が観察された。D-arginine は NO を生成せず呼吸燃料としても利用されないため、ビオチン欠乏による低下はアルギニン分泌機構中での直接的な作用とは考え難い。ビオチンの添加実験においても、アルギニン応答性インスリン分泌ではビオチンによるインスリン分泌の増強効果は観察されなかった。以上の結果から、ビオチン欠乏状態ではアルギニン応答性インスリン分泌は低下するものの、ビオチンはその分泌機構中に作用点を持たないものと推察される。

## P-8

### 黒酢及び食酢中の D-アミノ酸の定量的解析

岡田かおり<sup>\*1)</sup>, 郷上佳孝<sup>1)</sup>, 竹下義隆<sup>2)</sup>, 老川典夫<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 関西大学 化学生命工学部, <sup>2)</sup> 福山黒酢株式会社)

【目的】D-アミノ酸は、非天然型とみなされ、生体内で重要な生理機能を持たないと考えられてきた。しかし近年、ヒトを含む哺乳動物の特定の部位に高濃度の遊離型 D-アミノ酸が存在することが報告され、それらの由来や生理機能に関心が寄せられている。D-Asp は、神経組織や内分泌組織に局在し、生理活性を担っていることが示唆されている。先にわれわれは、本学会でさまざまな野菜や果物、さらに種々の日本酒などの食品・飲料中に各種 D-アミノ酸が含まれていることを報告し、日本酒では、その仕込み方などの違いが、D-アミノ酸含有量に影響を及ぼすことを示した。本研究では、発酵調味料の黒酢、黒酢を用いて作られるフルーツ黒酢および米酢中の D-アミノ酸含有量を調べることを目的とする。

【方法】黒酢・米酢・フルーツ黒酢 19 製品中の D-及び L-アミノ酸を定量した。アミノ酸分析は、各分析試料を 50 mM 酢酸ナトリウム溶液で希釈後、含有アミノ酸を  $\alpha$ -フタルアルデヒドと N<sup>ε</sup>-アセチル-L-システインで蛍光キラル誘導体化して HPLC で実施した。測定は少なくとも 3 回実施し、各アミノ酸について作成した検量線からそれぞれのアミノ酸濃度を算出した。

【結果および考察】定量の結果、すべての黒酢製品中に D-Asp, D-Glu, D-Ser, D-Ala, D-Val, D-Phe, D-Leu, D-Lys, D-Pro が含まれていることが明らかとなった。また、D-Tyr, D-Ile, D-His は約 75%の製品中に、D-Arg は約 50%、D-Asn は約 25%の製品中にそれぞれ含まれていた。米酢中に含まれる D-アミノ酸の種類は黒酢と同様であったものの、その含有量は黒酢の 1/4~1/10 程度と低濃度であった。さらに、フルーツ黒酢中に含まれる D-アミノ酸の種類には米酢と同様の傾向がみられた。フルーツ黒酢中の各 D-アミノ酸濃度はいずれも黒酢の 1/2~1/4 程度であったが、米酢より濃度はいずれも高かった。なお、本研究はイノベーション創出基礎的研究推進事業により実施したものである。

## P-9

### 母親手作りの離乳食からのミネラル摂取量の推定と評価

吉田宗弘\*, 増田卓也, 高橋健哉

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

【目的】離乳期の栄養素摂取量に関する情報は限定的であり、とくにミネラルなどの微量栄養素摂取量の情報はきわめて少ないのが実情である。本研究では、8 から 16 か月児を対象として、母親の手作りの離乳食を収集し、含有される 13 種のミネラル（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、亜鉛、銅、マンガン、ヨウ素、セレン、クロム、モリブデン）を定量し、離乳食からのミネラル摂取量の推定と評価を行った。

【方法】兵庫県下の子育て支援施設の協力のもと、同施設を利用する母親 25 名（年齢 30.4±3.8 歳）から手作り離乳食 1 日分を収集した。収集した離乳食は 1 食ごとにすべてを凍結乾燥後、ミルで均一に粉碎した。試料の前処理は以下の方法で行った。硝酸と過塩素酸による湿式灰化（リン、鉄、亜鉛、銅、マンガン、セレン、モリブデン）；0.1M 塩酸による抽出（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム）；550℃での乾式灰化（クロム）；0.5%テトラメチルアンモニウムヒドロキシドによる抽出（ヨウ素）。定量は以下の方法で行った。原子吸光光度法（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン）；ICMPS 法（ヨウ素、セレン、クロム、モリブデン）；バナドモリブデン酸吸光光度法（リン）。

【結果と考察】各ミネラルの測定値をもとに、これらの離乳食を 6-11 か月児のエネルギー摂取の目安量、または 1-2 歳児の推定エネルギー必要量相当量摂取したときのミネラル摂取量を算定した。この算定値を食事摂取基準の各指標と比較することにより、以下のように評価した。①今回収集した離乳食のミネラル含有量は、13 種類ともほぼ適切な範囲にあると考えられた。②マグネシウム、リン、マンガン、セレン、クロム、モリブデンは、鉄と同様に離乳の進行とともに摂取量が増加すると考えられた。③セレンの摂取は、1-2 歳児において、日常的に耐容上限量を超える可能性が高く、成人の値を体重比により外挿して設定している現行の幼児期のセレンの耐容上限量は再考する必要があると判断された。④離乳食のヨウ素含有量は変動が大きく、幼児期においても耐容上限量を超えるような高ヨウ素含有量の献立を間欠的に摂取することによって必要量のヨウ素を確保していると考えられた。

## P-10

### 妊娠における葉酸状態についての検討

溝畑秀隆\*<sup>1)</sup>, 渡邊敏明<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 神戸松蔭女子学院大学, <sup>2)</sup> 兵庫県立大学)

【目的】妊娠早期に葉酸が不足すると二分脊椎症、無脳症などの発症リスクが高まることが知られている。日本人の食事摂取基準（2010 年版）における葉酸の推定平均必要量は、成人女性で 240  $\mu$ g/日で妊婦付加量 240  $\mu$ g/日である。しかし、葉酸の摂取については、わが国では、一般女性の意識が低いのが現状である。そこで、妊婦を対象に妊娠中の血中葉酸量の動態について検討した。

【対象者および実験方法】神戸市内の某産婦人科に通院している妊婦 28 名を対象とした。平均年齢は 31.6±4.2 歳である。妊娠中の定期検診（妊娠初期・中期・末期）に採血をして、合わせて食物摂取頻度調査（FFQ）を実施した。サンプルの葉酸分析には定量用菌として、乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* NBRC No.3425)を用いた。また葉酸の摂取量は、日本人の食事摂取基準（2010 年版）を利用した食品群別計算法で算出した。

【結果および考察】血清葉酸の平均値は、妊娠初期 0.27ng/ml、中期 1.09ng/ml、末期 0.92ng/ml であった。妊娠初期に比べ、中期と末期において有意差が認められた( $p < 0.05$ )。妊娠初期から中期にかけて上昇し、末期において僅かながら低下がみられた。葉酸の一日当たりの平均摂取量は、妊娠初期 227  $\mu$ g、中期 217  $\mu$ g、末期 259  $\mu$ g であり、差異は認められなかった。妊娠期間中の平均は 234  $\mu$ g/日であり、食事摂取基準（2010 年版）と比較して少ないことから、葉酸の摂取量については、妊娠前から考える必要がある。

## P-11

### 特定健康診査における積極的支援対象者の血中微量栄養素測定を試み

宮崎 孝<sup>1)</sup>, 大野洋一<sup>1,2)</sup>, 佐藤真喜子<sup>1)</sup>, 望月 徹<sup>1)</sup>, 野寺 誠<sup>3)</sup>, 竹中恒夫<sup>2)</sup>, 井上 勉<sup>2)</sup>, 柴崎智美<sup>1)</sup>, 鈴木洋通<sup>1,3)</sup>

(<sup>1)</sup> 埼玉医科大学・地域医学医療センター, <sup>2)</sup> 埼玉医科大学・腎臓内科,

<sup>3)</sup> 埼玉医科大学・保健医療学部 健康医療科学科)

【はじめに】我が国は健康寿命の伸延が重要な課題となっており、生活習慣病については医療制度改革を含めて、多岐にわたる対策がなされている。その一つに、従来の二次予防である健康診断から一次予防も視野に入れた特定健康診査への移行がある。しかしながら、その充実のためには受診率の向上が最も重要であるが、まだ十分とは言えない現状にある。また、健康診査をきっかけとした健康や食に関する知識の向上は、受診率の向上のみならず多方面にわたって地域住民の健康増進につながると考えられる。当然のことであるが、生活習慣病予防の観点からは、栄養学的な知識の普及は不可欠である。とくに、摂取カロリーと運動に関する点は最も重視される点である。しかしながら、それぞれの生体における分布や役割を考えると、亜鉛などの微量元素の摂取状況なども無視できないと考えられる。埼玉医科大学・地域医学・医療センターでは、近隣市町村で行われている特定健康診査の中で積極的支援の対象者となった人達に対して面接を行い、生活面での実践的なアドバイスを行って協力している。今回、要積極的支援となった人達に対して、本来の測定項目に加えて、血清中の亜鉛 (Zn)、銅 (Cu)、カルシウム (Ca)、リン (P) およびマグネシウム (Mg) の量を測定した。

【方法】M町健康管理センターを訪れた、積極的支援対象者のうち、本調査の趣旨に賛同した希望者44名のZn、Cu、Ca、P、Mgの血清中濃度の測定を行った。検査を行った44名の内訳は、男性が33名、女性が11名であった。平均年齢は59.3±6.4歳であった。

【結果】血清中の各元素の平均値は、Zn: 92.6±16.3 μg/dl、Cu: 101.3±17.0 μg/dl、Ca: 9.7±0.3mg/dl、P: 3.5±0.3 mg/dl、Mg: 2.2±0.1 mg/dlであった。Cuは、男性が96.7±18.3 μg/dl、女性が115.4±18.6で女性の方が高い傾向があったが、他の元素では男女間に差は認められなかった。また、いずれの検査項目にも異常を示す結果は認められなかった。

【まとめ】今回の調査の対象者は、メタボリック・シンドロームが疑われる人達で、栄養過多の傾向といえる。これらの人達では微量元素の欠乏等は認められないことがあらかじめ予想されたが、あらためて確認できた。また、M町では国民健康保険加入者の受診率は当初(平成18年度)は8.7%であった。とくに40歳代は3%台と決して高くはなかった。現在の受診率は約45%と顕著に増加したが、健康診査に微量元素の測定を加え、さらにその情報を住民に還元することにより、健康診査に対する関心を高めるばかりでなく、食事と栄養に対する関心・知識を高めることにより、地域住民の健康増進に貢献できる方策を検討して行きたい。

## P-12

### 葉酸コンジュガーゼ活性に及ぼす食品成分の影響

榎原周平\*, 柴垣 圭, 林 智里, 塩谷麻衣, 大串美沙, 渡邊敏明

(兵庫県立大、環境人間)

【目的】食品に含まれる葉酸は、グルタミン酸が数個結合したポリグルタミン酸型として存在している。このグルタミン酸側鎖数は食品により異なる。また、種々の一炭素単位(メチル、メチレン、メテニル)も結合しており、食品に含まれる葉酸化合物の形態は多様である。葉酸が吸収されるには小腸刷子縁膜に存在するグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ(GCPII)(通称:葉酸コンジュガーゼ)によって、モノグルタミン酸型となる必要がある。葉酸の生体利用率に影響する要因として、消化過程における分解、食品マトリックスによる捕捉、小腸の取り込み過程における阻害などが考えられる。本研究ではGCPIIに及ぼす食品成分の影響について検討をおこなった。

【方法】本研究ではブタ小腸を用いた。ブタ小腸を生理食塩水で洗浄した後、粘膜を擦り取り、常法に従い刷子縁膜小胞を調製した。食品はホモジナイズ後、遠心して上清を分取し、pHを7.0に調整した。この溶液を食品抽出液とした。GCPII活性は、基質としてプテロイルトリグルタミン酸(PG3)を用いて測定した。調製した刷子縁膜小胞を添加後、単位時間当たりに減少するPG3量をHPLCで測定した。この反応系に食品抽出液を添加した時の活性に及ぼす影響について検討した。

【結果および考察】測定した食品の中で、オレンジジュース、トマト、緑茶において、GCPII活性の阻害が認められた。特に緑茶の阻害が大きく、濃度依存的な阻害を認めた。GCPIIは亜鉛依存性の酵素であるので、反応系に亜鉛を添加し、再度活性を測定したが、緑茶による阻害の回復は認められなかった。現在、この阻害機構について検討しているところである。緑茶は葉酸含有量が高く、葉酸の摂取量に寄与している食品である。しかし、GCPIIを阻害することによって葉酸の生体利用率に影響を与えているかもしれない。

## P-13

### *Shewanella livingstonensis* Ac10 のエイコサペンタエン酸生合成酵素の機能解析

宮 春傑\*, 川本 純, 江崎信芳, 栗原達夫  
(京大・化研)

【目的】 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は南極海水から分離された低温適応グラム陰性細菌である。本菌は 4°C から 25°C の範囲で生育し、4°C で長鎖多価不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) を生産するが、18°C では生産しない。EPA は本菌の低温環境への適応において重要な役割を果たすことが EPA 欠損変異株を用いた実験で示されている。EPA の生合成には *orf2*、*orf5*、*orf6*、*orf7*、*orf8* からなる遺伝子クラスターが関与する。本遺伝子クラスターにコードされるタンパク質の機能を明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】 EPA 生合成遺伝子クラスターにコードされるタンパク質を *Escherichia coli* BL21 (DE3) で高生産し精製して *in vitro* で機能を解析した。まず、ホスホパンテティニルトランスフェラーゼと推定される Orf2 の機能を解析するため、Orf2 の基質と推定される Orf5 中の 5 つのアシルキャリアータンパク質 (ACP) ドメイン (ACP1~ACP5) をそれぞれ *E. coli* で生産し、Orf2 の触媒作用によってホスホパンテティニル化されるか調べた。反応産物は HPLC および MALDI-TOF-MS によって分析した。また、精製した Orf2 を用いて抗体を調製し、この抗体を用いて *S. livingstonensis* Ac10 における Orf2 の発現をウェスタンブロット法によって調べた。

【結果・考察】 抗 Orf2 抗体を用いたウェスタンブロット解析により、*S. livingstonensis* Ac10 において Orf2 が発現していることを確認した。Orf2 の推定アミノ酸配列から、本タンパク質はホスホパンテティニルトランスフェラーゼ活性をもつものと推定された。精製した Orf2 の存在下、ACP1~ACP5 と CoA をインキュベートしたところ、いずれの ACP もホスホパンテティニル化されることが示された。ACP3 の Ser37 を改変した変異型酵素ではこの修飾反応が見られなかったことから、このセリン残基がホスホパンテティニル化されるものと考えられた。EPA の生合成反応は、Orf2 によってホスホパンテティニル化された Orf5 を足場として進行するものと考えられた。

## P-14

### エイコサペンタエン酸生産菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 由来 1-アシル-*sn*-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ (PlsC) の機能解析

趙 賢南\*, 笠井 渉, 川本 純, 江崎信芳, 栗原達夫  
(京大・化研)

【目的】 ホスファチジン酸 (PA) は膜リン脂質の生合成中間体として重要である。*Escherichia coli* では、PA はリゾホスファチジン酸を前駆体として、1-アシル-*sn*-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ (PlsC) の作用で生成することが示されている。長鎖多価不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) を生産する細菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 はリン脂質の *sn*-2 位のアシル鎖として EPA をもつが、このような EPA 含有リン脂質の生合成に関与する可能性のある PlsC のホモログを 5 つもつことがゲノム解析から明らかになった。これらの PlsC ホモログ (PlsC1~PlsC5) の機能を明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】 相同組み換えによって PlsC1~PlsC5 の遺伝子をそれぞれ破壊し、それらの EPA 含有リン脂質生産能を ESI-MS によって解析した。また、*E. coli* の *plsC* 温度感受性変異株 (JC201 株) に *S. livingstonensis* Ac10 由来の PlsC ホモログ遺伝子を導入し、それらが *E. coli* 内で機能するか調べた。一方、*S. livingstonensis* Ac10 由来の PlsC ホモログを *E. coli* を宿主として生産して精製し、*in vitro* で活性を調べた。

【結果・考察】 PlsC1~PlsC5 の遺伝子をそれぞれ破壊した (*ΔplsC1~ΔplsC5*) が、いずれの破壊株も致死とはならず、生育に必須ではないことが示された。それらのリン脂質組成を ESI-MS で調べた結果、*ΔplsC1* において、EPA 含有リン脂質の生産能が顕著に低下することが認められ、主として PlsC1 が EPA をリン脂質に導入する役割を担っているものと考えられた。*E. coli* JC201 で *plsC1* を発現させたところ、本菌の生育が回復したことから、PlsC1 は *E. coli* の細胞内で PlsC 活性をもつことが示された。一方、PlsC1 を *E. coli* を宿主として生産し、精製した。膜タンパク質と推定される PlsC1 を種々の界面活性剤を用いて可溶化して活性を測定したが、PlsC 活性は検出されなかった。本タンパク質の活性発現には、本菌の細胞膜を構成する脂質分子の存在が必要であるものと考えられた。

ヒジキ成育過程における *Fe*・*Mg* の集積について。

片山眞之, 笠間基寛, 片山洋子\*

(大阪青山大学健康科学部)

【序】食材として利用される褐藻類・ヒジキ (*Sargassum fusiforme*) は食物繊維の含有量が高く、またミネラル類も豊富に含まれている。ミネラルの中で、*Fe* および *Mg* は栄養学的にも重要な元素なので、それらがどのような経過でヒジキ藻体中に集積してくるのかを知ることはヒジキを利用する上での重要な情報を提供するであろう。

【実験法】生育中のヒジキを経時的に採集して、冷却状態で持ち帰り、十分に洗浄した後、藻体を各部位に分画した。各部位は凍結乾燥した後、湿式灰化して各々の部位における *Fe* および *Mg* の存在量を原子吸光分光光度計にて定量した。

【結果・考察】藻体全体として、*Fe* と *Mg* とは異なる集積過程を示していた。これらのパターンは、*Mg* は光合成活性を、*Fe* は呼吸酵素系の活性を強く反映しているものと考えられる。

## かき肉エキスによる海馬の総グルタチオン増強

福田 卓\*, 春松 慎, 松井博之, 松田芳和

(日本クリニック㈱・中央研究所)

【目的】昨年、われわれは、ラットにかき肉エキス及びワルファリンを投与した場合、海馬中総グルタチオン量が増強することを示した。しかし、この実験ではかき肉エキス単独投与による海馬中総グルタチオン量の増強効果については未検討であった。そこで、本実験ではかき肉エキス単独による海馬中総グルタチオン量の変動を検討した。また、様々な臓器における総グルタチオン量に対するかき肉エキスの効果を検討した。そして、グルタチオンと共役的に解毒作用を担っているグルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性(以下 GST 活性) に対する影響を調べた。

## 【方法】

(実験 1) 6 週齢 Wistar 系♂ラットを以下の 3 群(各群 6 匹)に分け、蒸留水およびかき肉エキス溶液を 1 週間、強制経口投与した。その後、各種臓器を摘出し、総グルタチオン量を測定した。

- ① 対照群 : 蒸留水投与
- ② 200 mg/kg body weight(低容量) : かき肉エキス投与(かき肉エキス濃度 40 mg/ml)
- ③ 500 mg/kg body weight(高容量) : かき肉エキス投与(かき肉エキス濃度 100 mg/ml)

(実験 2) 6 週齢 Wistar 系♂ラットを以下の 2 群(各群 12 匹)に分け、蒸留水およびかき肉エキス溶液を 1 週間、強制経口投与した。その後、各種臓器を摘出し、総グルタチオン量(海馬は除く)および GST 活性を測定した。

- ① 対照群 : 蒸留水投与
- ② 500 mg/kg body weight : かき肉エキス投与(かき肉エキス濃度 100 mg/ml)

【結果および考察】(実験 1)海馬において、対照群に比べ低容量群および高容量群で総グルタチオン量が約 2 倍、有意に上昇した。このことから、かき肉エキスは単独で海馬中総グルタチオン量を増強することが分かった。(実験 2)海馬において、対照群に比べかき肉エキス投与群で GST 活性が有意に上昇した。これらの結果より、老化および認知症の発症に酸化ストレスが関与することが考えられていることから、老化や認知症などの予防・治療に有用である可能性が示唆された。また、腎臓において、対照群に比べかき肉エキス投与群で総グルタチオン量が有意に上昇した。このことから、腎臓においてもかき肉エキスの抗酸化作用が示唆された。