

The 27th Annual Meeting of
the Japan Trace Nutrients Research Society
第 27 回日本微量栄養素学会学術集会

Program and Abstracts

講演要旨集

Saturday, June 5, 2010
Kyoto

Japan Trace Nutrients Research Society
日本微量栄養素学会

第 27 回 日本微量栄養素学会学術集会 プログラム

平成 22 年 6 月 5 日
京都リサーチパーク

10 : 00 ~ 10 : 05

開会の辞

会 頭：大谷貴美子（京都府立大学）

10 : 05 ~ 10 : 35

口頭発表

座 長：吉田宗弘（関西大学）

10 : 05 ~ 10 : 20

O-1

クズでんぶんの貯蔵・湿熱処理に伴う調理科学的特性の変化

村元由佳利*¹⁾，松井元子¹⁾，稲村真弥¹⁾，杉本温美²⁾，岩城啓子³⁾，
饗庭照美⁴⁾，富田圭子¹⁾，大谷貴美子¹⁾

(¹⁾京都府立大大学院，²⁾近畿大，³⁾畿央大，⁴⁾京都光華女子大)

10 : 20 ~ 10 : 35

O-2

泡立て卵白泡沫に及ぼす銅イオンの影響

下藤 悟*，松井元子，富田圭子，大谷貴美子
(京都府立大大学院)

10 : 35 ~ 11 : 20

口頭発表

座 長：松井 徹（京都大学）

10 : 35 ~ 10 : 50

O-3

摂取する鉄の化学形態の違いによるラット鉄栄養状態の変化

植村佳奈*，細見亮太，福永健治，吉田宗弘
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

10 : 50 ~ 11 : 05

O-4

重度鉄欠乏ラットにみられた血液生化学検査値の異常

横井克彦*^{1, 2)}，許斐亜紀³⁾，小田木美喜²⁾

(¹⁾聖徳大学大学院人間栄養学研究科，²⁾聖徳大学人間栄養学部，
³⁾愛知学泉大学家政学部管理栄養士専攻)

11:05 ~ 11:20 O-5 葉酸欠乏がマウスの骨量に及ぼす影響
榎原周平*, 大串美沙, 渡邊敏明
(兵庫県立大学・環境人間)

11:20 ~ 11:50

口頭発表

座長: 中川平介 (広島大学)

11:20 ~ 11:35 O-6 魚肉タンパク質および魚肉ペプチド給餌によるラットの脂質吸収に及ぼす影響

細見亮太*¹⁾, 深尾 翠¹⁾, 福永健治¹⁾, 於久野元希¹⁾, 八木田隆太¹⁾,
神田靖士²⁾, 西山利正²⁾, 吉田宗弘¹⁾

¹⁾関西大学化学生命工学部 生命・生物工学科,

²⁾関西医科大学公衆衛生学講座)

11:35 ~ 11:50 O-7 海藻摂取がラットのカルシウムとマグネシウム吸収に及ぼす影響

中村江里*, 横田大樹, 松井 徹

(京大院農・動物栄養)

11:50 ~ 13:00

昼食・評議員会

13:00 ~ 13:30

総会

13:30 ~ 14:40

特別講演

座長: 大谷貴美子 (京都府立大学)

13:30 ~ 14:40

生命のスーパーシステムと生存戦略

—生物進化から生老病死を診る—

井上正康

(大阪市立大学医学部分子病態学講座)

14:40 ~ 14:55

休憩

14 : 55 ~ 15 : 40

ポスター要旨発表

15 : 40 ~ 16 : 40

ポスターセッション

- P-1 微生物が D-リシンを利用するのに必須な酵素, アルギニンラセマーゼの構造特性
松井大亮*¹⁾, 老川典夫^{1, 2)}
(¹⁾関西大学大学院工学研究科, ²⁾関西大学化学生命工学部)
- P-2 ウマに対する異なるビタミン K 剤補給が血漿中ビタミン K 同族体濃度に及ぼす影響
寺地智弘*¹⁾, 岡本直也¹⁾, 井上喜信²⁾, 蘆原永敏²⁾, 松井 徹¹⁾
(¹⁾京大院農・動物栄養, ²⁾JRA 日高)
- P-3 フラビン酵素 2-ハロアクリル酸ヒドラターゼの二機能性: FADH₂ 依存的水付加活性と NADH 依存の FAD 還元活性
Amr M. Mowafy*, 栗原達夫, 江崎信芳
(京大・化研)
- P-4 カキ肉エキスを投与したラットの血清亜鉛濃度の変化
安部麻美子*¹⁾, 松田芳和¹⁾, 小邨奈未¹⁾, 福永健治²⁾, 吉田宗弘²⁾
(¹⁾日本クリニック(株)・中央研究所, ²⁾関西大・化学生命工学部)
- P-5 亜鉛欠乏下における腎臓中ヘムオキシゲナーゼ-1 濃度の変化
許斐亜紀*¹⁾, 横井克彦²⁾
(¹⁾愛知学泉大学家政学部管理栄養士専攻,
²⁾聖徳大学大学院人間栄養学研究科)
- P-6 茶系飲料の投与がラットの鉄栄養状態に及ぼす影響
安井 萌*, 小野寺佳奈, 細見亮太, 福永健治, 吉田宗弘
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)
- P-7 トリブチル錫曝露によるラット嗅覚障害発症メカニズムの解析
富山健一*¹⁾, 中島晴信²⁾, 小川康恭³⁾, 荒川泰昭³⁾, 熊谷裕通⁴⁾
(¹⁾(独)国立精神・神経医療研究センター, ²⁾大阪府立公衆衛生研究所,
³⁾(独)労働安全衛生総合研究所, ⁴⁾静岡県立大学)
- P-8 ラットにおける飼料中ルビジウムと組織中ルビジウムの用量効果関係の検討
内田由佳*¹⁾, 許斐亜紀²⁾, 横井克彦¹⁾
(¹⁾聖徳大学大学院人間栄養学研究科, ²⁾愛知学泉大学家政学部)
- P-9 ラットにおける妊娠前期の極端な制限食が生後仔ラットの体組成に及ぼす影響
鈴木美季子*, 森 恵見, 中西由季子, 木村修一
(昭和女子大学大学院生活機構研究科)

- P-10 妊婦の葉酸摂取量と食意識**
 黒川通典*¹⁾, 黒川浩美²⁾, 今井佐恵子¹⁾, 今木雅英¹⁾, 奥田豊子³⁾
 (1)大阪府立大学, 2)聖バルナバ病院, 3)帝塚山学院大学)
- P-11 妊娠期におけるビオチン摂取量および血清ビオチン量の変化について**
 溝畑秀隆*¹⁾, 伊藤梨紗¹⁾, 渡邊敏明²⁾
 (1)神戸松蔭大学, 2)兵庫県立大学)
- P-12 ヒジキに含まれるヒ素の挙動 人工消化酵素の影響**
 片山(須川)洋子*^{1,2)}, 片山眞之^{1,2)}, 今西博子²⁾, 富田圭²⁾
 (1)大阪青山大学健康学部健康栄養学科,
 2)岐阜女子大学家政学部健康栄養学科)
- P-13 セレン蓄積植物に存在する含セレンアミノ酸のLC-MSによる同定**
 吉田宗弘*, 水谷泰輔
 (関西大学化学生命工学部食品工学研究室)
- P-14 日本人高齢者における全血液中ミネラル栄養状態**
 近藤明子*¹⁾, 西牟田守²⁾, 宮崎秀夫³⁾, 花田信弘⁴⁾, 武田隆久¹⁾,
 木村美恵子¹⁾
 (1)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,
 2)千葉県立保健医療大学, 3)新潟大学大学院, 4)鶴見大学歯学部)
- P-15 Klotho 遺伝子の発現からみた健康の保持・増進に関する検討**
 –カロリー制限による老化遺伝子 Klotho の発現亢進について–
 宮崎孝*¹⁾, 佐藤真喜子¹⁾, 井上勉²⁾, 竹中恒夫²⁾, 永木由佳³⁾,
 野寺誠³⁾, 羽生真由子¹⁾, 大野洋一^{1,2)}, 柴崎智美¹⁾, 鈴木洋通^{1,2)}
 (1)埼玉医科大学地域医学・医療センター, 2)埼玉医科大学腎臓内科,
 3)埼玉医科大学保健医療学部健康医療科学科)

16:40 ~ 17:10

口頭発表

座長：吉野昌孝（愛知医科大学）

- 16:40 ~ 16:55 O-8 ラット大脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 を用いた TBT 暴露によつて誘導される細胞内カルシウムの増加と細胞死誘導メカニズムの解析
 富山健一*¹⁾, 栗山孝雄^{2,5)}, 中島晴信³⁾, 小川康恭⁴⁾, 荒川泰昭^{4,5)}
 (1)(独)国立精神・神経医療研究センター, 2)東北生活文化大学,
 3)大阪府立公衆衛生研究所, 4)(独)労働安全衛生総合研究所,
 5)静岡県立大学)

16:55～17:10 O-9 クズイソフラボノイドによるマウス骨髄破骨細胞の分化抑制
田中照佳*, 内山貴裕, 唐 漢軍, 鷗沢有希, 森山達哉, 河村幸雄
(近畿大学大学院農学研究科応用生命化学)

17:10～17:40

口頭発表

座 長: 荒川泰昭 (労働安全衛生総合研究所)

17:10～17:25 O-10 山羊乳の飲用と血中ミネラル濃度に関する基礎的研究
金 天浩*¹⁾, 尹 教福²⁾, 鄭 行俊²⁾, 金 玉星²⁾
(¹⁾江原大学校獣医科大学, ²⁾江原道家畜衛生試験所)

17:25～17:40 O-11 ポリアミンの細胞毒性
村上恵子*¹⁾, 細川好孝¹⁾, 吉野昌孝²⁾
(¹⁾愛知医大・医・生化, ²⁾金城学院大・食環境)

17:40～17:45

閉会の辞

懇親会

井上正康先生 プロフィール

学歴	昭和45年3月	岡山大学医学部医学科卒業
	昭和49年3月	岡山大学大学院医学研究科（病理学専攻）修了
職歴	昭和48年1月～5月	インドペルシャ湾航路船医
	昭和49年4月	熊本大学医学部生化学講座（助手）
	昭和53年4月	熊本大学医学部生化学講座（講師）
	昭和55年8月	米国アルバートアインシュタイン医科大学客員準教授
	昭和58年4月	熊本大学医学部生化学講座（助教授）
	平成元年1月～	米国タフト大学医学部客員教授（分子生理学）
	平成4年10月～	大阪市立大学医学部 生化学・分子病態学（教授）
	平成12年1月～	倉敷成人病センター・医科学研究所・副所長（兼）
	平成18年1月～	阿倍野適塾・塾長（無国籍社会人生涯教育塾）

学会および社会活動

日本生化学会評議員 日本炎症再生学会評議員 日本肝臓学会評議員
日本臨床代謝学会評議員 日本 DDS 学会評議員
国際フリーラジカル学会評議員（アジア地区代表） New York Academy 会員

著書：Renal Biochemistry (Elsevier)、Glutathione (John Wiley & Sons)

Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine (Plenum)

The Liver: Biology and Pathophysiology (Raven Press)

活性酸素と疾患（学会出版）活性酸素と病態（学会出版）

活性酸素と医食同源（共立出版）活性酸素と運動（共立出版）

活性酸素と老化制御（共立出版）疲労の科学（講談社）

新ミトコンドリア学（共立出版）肝癌の治療戦略（医薬ジャーナル社）

レドックス制御と抗酸化治療戦略（医薬ジャーナル社）

活性酸素とシグナル伝達（講談社サイエンティフィック）

NO とスーパーオキシド（日本アクセルシュプリングー社）

生命誕生と生物の生存戦略（日本アクセルシュプリングー社）

アポトーシスの分子機構と病態（日本アクセルシュプリングー社）

国際治療ハンドブック（エルセビアー）

血管ほぐし健康法（角川 SSC）

趣味：試す・観る・読む・聴く・釣る・飛ぶ・潜る・撮る・活ける

特別講演

生命のスーパーシステムと生存戦略 —生物進化から生老病死を診る—

井上正康

(大阪市立大学医学部分子病態学講座)

生物の進化原理は「一創造百盗作」であり、遺伝子の微小変異を基に似て非なる利用法と外観を獲得し、過酷な生存競争を駆け抜けて現在の地球生態系を創生してきた。生命の最小単位である細胞は無数の高分子と低分子で構成されており、両者の相互作用が代謝輸送系を介して生命現象を支えている。微量栄養素の多くは生体高分子と結合して構造の安定化や触媒機能をサポートしている。例えば、Cu, Zn, Seなどを有する金属酵素やレドックスサイクルを形成するビタミン A, C, E などはその代表的な例である。これらが高分子と相互作用する事により生命のダイナミズムが支えられている。微量栄養素の中には酸素代謝に関与する物も少なくない。

種の多様性が爆発的に広がったカンブリア紀は、大気中の酸素濃度が現代の数%に満たなかった。このカンブリアを境に光合成能力が増大して酸素が急速に増加し、2億年程の間に現代の高濃度酸素世界が誕生した。生物が創造した最大の遺産である酸素の一部は、カンブリア紀様の環境下で活性酸素に変換されている。活性酸素は遺伝子をはじめとする様々な生体成分を酸化傷害する。このため多くの初期生物にとって極めて迷惑な毒ガスであった。さらに、カンブリア紀を境に海から陸へとニッチを広げてきた動植物群にとって、地上に降り注ぐ紫外線の毒性も大きな脅威であった。このためカンブリア紀の生物は紫外線と活性酸素に対する防御機構を獲得することが生存の必須条件であった。カンブリアの生物たちは活性酸素の毒性を回避する防御システムを獲得しながら、それを積極的に利用して逞しく生きる道を模索してきた。

実は、カンブリア紀の低酸素地球環境は、無数の嫌気性菌が謳歌する腸内をはじめ、今でも人体の随所に温存されている。そこでは活性酸素が感染防御や栄養循環エネルギー代謝などで重要な役割を果たしている。ヒトが食物を安全に摂取出来るのもこのお陰である。摂食により今日を生き抜くことが出来れば明日に遺伝子をつなぐ欲が芽生える。食欲と性欲の二大本能は脳に軍事司令部を設置し、永遠の宿敵である病原体との軍拡競争を繰り広げてきた。この脳免疫統合系司令部は活性酸素を用いて感染防御、循環エネルギー代謝、生殖、脳機能などを統合制御する生存のスーパーシステムを構築している。

しかし、活性酸素は自己の成分をも腐食させるため、加齢とともにゲノムが劣化して老化や各種疾患の増悪因子となる。生存に不可欠なミトコンドリアは活性酸素を介して細胞死を誘導し、初期には生殖と成長のシナリオを構築し、後期には加齢性病変と個体死のアドリブを演出している。加齢とともに生活習慣病や癌が増えるのはこの為である。揺りかごから墓場まで、ヒトは活性酸素から解き放たれることはない。生物が永い進化の過程で海から河へ、陸から空へとニッチを拡大してきた背景にも本スーパーシステムが関与してきた。本講演では、活性酸素を分子言語とする生命のスーパーシステムが悠久の生命潮流を演出する様相を紹介し、進化生物学的観点から微量栄養素と生老病死の問題を論ずる。

口頭発表

講演 1

クズでんぷんの貯蔵・湿熱処理に伴う調理科学的特性の変化

村元由佳利*¹⁾, 松井元子¹⁾, 稲村真弥¹⁾, 杉本温美²⁾, 岩城啓子³⁾, 饗庭照美⁴⁾, 富田圭子¹⁾, 大谷貴美子¹⁾

(¹⁾ 京都府立大大学院, (²⁾ 近畿大, (³⁾ 畿央大, (⁴⁾ 京都光華女子大)

【目的】クズでんぷんは古くより和菓子の材料としてよく利用されているが、新しいクズでんぷんよりも数年間貯蔵したクズでんぷんの方がこしがあると言われている。一方、でんぷんは湿熱処理することで、でんぷん分子鎖の移動や再配列が起こり、結晶化度が変化しその特性が大きく変化することが報告¹⁾されている。そこで本研究では、新しいクズでんぷんと貯蔵されたクズでんぷん、湿熱処理したクズでんぷんの調理科学的特性を比較検討した。

【方法】試料は、(株)八十吉(奈良県, 吉野)製のクズでんぷん(新クズ～5年クズ)と、新クズを湿熱処理(120℃, 10・30・60・120分)したものを用いた。クズでんぷんの色彩は(株)ミノルタ製色彩色差計 CR-300 を用い、水分含量は 135℃恒量法により測定した。また、一定条件で糊化後のゾル(ゲル)の物性を(株)山電製クリープメータ RE-3305 を用い、厚生労働省「えん下困難者用食品たる表示の許可基準」(2009)の測定法に準じて、経時的に測定した。糊化特性は RVA を用いて測定し、その他、澱粉粒の X 線回折、電子顕微鏡による観察、粒度分布の測定を行った。酵素分解性は現在検討中である。

【結果・考察】色彩測定の結果、貯蔵でんぷん・湿熱処理でんぷんでは黄色度が高くなり、メイラード反応が起きていることが示唆された。でんぷんゾル(ゲル)は、いずれのクズでんぷんでも時間経過と共に硬くなったが、貯蔵でんぷん・湿熱処理でんぷんの方がより硬くなった。付着性の時間経過による変化は、新クズと貯蔵でんぷんでは低下傾向を示し差はみられなかった。しかし、湿熱処理でんぷんの付着性は、時間に伴い一定または増加し新クズとは異なる挙動を示した。糊化特性では、貯蔵でんぷんの最高粘度は低くセットバック値も小さかったが、湿熱処理でんぷんではセットバック値が大きく老化が早いことが示唆された。X線回折図形は、新クズと貯蔵でんぷんは C 図形を示したが、湿熱処理でんぷんでは A 図形を示し、貯蔵でんぷんに起きている変化は湿熱処理による変化とは異なることが示唆された。粒度分布では、湿熱処理でんぷんでは大きなでんぷん粒が多くなったが、貯蔵でんぷんには変化は認められなかった。

【参考文献】¹⁾ 久下 喬, 北村進一: 澱粉科学, 32, p.65-83 (1985) .

講演 2

泡立て卵白の品質に及ぼす銅イオンの影響

下藤 悟*, 松井元子, 富田圭子, 大谷貴美子

(京都府立大学大学院)

【目的】卵白を泡立てたメレンゲは洋菓子の製造に広く用いられているが、調整に銅製のボウルを用いると良質なメレンゲが出来ると経験的にいわれている。しかし、実証的な報告はされていない。そこで本研究では、ガラス、銅、ステンレス製のボウルを用いて泡立て卵白を調製し、泡立て卵白の品質に及ぼす銅ボウルの影響について検討した。また、Cu 粉末、無水 CuCl₂ を添加して泡立て卵白を調製し、銅イオンの影響を検討した。

【方法】卵白は無塩凍結卵白 P (キューピー製) を流水解凍 (8 時間) したものを用いた。攪拌にはハンドミキサーからの金属の影響をなくすために、プラスチック製のビーターを用いた。銅ボウルの対照にはガラス、ステンレス製ボウルを用いた。銅イオンの影響の検討には、ガラスボウルを使用し、Cu 粉末、無水 CuCl₂ をそれぞれ 1.0 mg% を添加し、泡立て卵白を調製した。対照にはガラス粉末を添加した。泡立て卵白の品質の評価には、調製直後の比重と、放置時間 30, 60, 90, 120 min における離液量を測定した。併せてデジタルマイクロスコープ (樹キーエンス) を用い、経時的な泡立て卵白の変化を観察した。物性の比較には、調製直後にクリープメーター (樹山電) でクリープ試験を行った。

【結果・考察】いずれの試料も調製直後の比重には差が見られなかったことから、起泡性には Cu イオンは関与していないと考えられる。放置時間 30 min 後の離液量は銅ボウルで調製した泡立て卵白は他と比べて少なく、ガラスボウルで調製したものの約 1/2 であり、銅が泡の安定性に関与していることが示唆された。また、粉末添加の泡立て卵白への影響では、Cu 粉末では各放置時間における離液量が多く、CuCl₂ では少なかったことから、安定性には Cu がイオン化していることが重要であると示唆された。クリープ試験から、銅ボウルでの泡立て卵白は、ガラスボウルのそれと比べ弾性率が小さかった。また調製直後の気泡をデジタルマイクロスコープで観察したところ、ガラスやステンレスボウルで調製した泡立て卵白では、気泡が互いに結着し多角形に変形しているものが多数存在したのに対し、銅ボウルで調製したものでは球形の気泡が多く、Cu イオンの泡の表面粘弾性への関与が示唆された。これらの詳細については今後検討する予定である。

講演3

摂取する鉄の化学形態の違いによるラット鉄栄養状態の変化

植村佳奈*, 細見亮太, 福永健治, 吉田宗弘

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

【目的】多くの栄養学の教科書には、食事鉄はヘム鉄と無機鉄に分類され、ヒトではヘム鉄の吸収性が高いと記載されている。しかし、動物栄養試験で多用されるラットでは、ヘム鉄の無機鉄に対する優位性は確認できない。むしろ、無機鉄が二価の硫酸鉄である場合には、無機鉄がヘム鉄よりも利用性が大きいという報告を容易に見いだせる。本研究では、硫酸第一鉄、クエン酸第二鉄、ヘモグロビン、および酵素加水分解処理して得られた低分子ヘム鉄をラットに投与し、鉄給源の違いがラットの鉄栄養に及ぼす影響を検討した。

【方法】鉄塩を組成から除いた AIN93G 飼料に、硫酸第一鉄、クエン酸第二鉄、ヘモグロビン粉末、低分子ヘム鉄粉末をそれぞれ鉄濃度 20 µg/g 添加することによって、鉄源の異なる 4 種の飼料を作成した。4 週齢の Wistar 系雄ラット 24 匹を 6 匹ずつ 4 群に分け、それぞれに作成した 4 種の飼料を与えて 4 週間飼育した。飼育期間終了後、血液、肝臓、腎臓、小腸、脾臓、大腿骨を採取した。また、飼育期間の最後の 4 日間は糞を回収した。採取した臓器と糞は濃硝酸を用いて灰化し、フレイム式原子吸光光度計を用いて鉄を定量した。また、全血と血清については、血球計算と血清生化学検査を行った。

【結果と考察】肝臓、腎臓、小腸、脾臓、および大腿骨の鉄濃度は、硫酸鉄投与群が顕著に高値を示した。残りの 3 群間に有意差は認められなかったが、いずれの臓器においても低分子ヘム鉄投与群が低値を示す傾向があった。ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血清鉄濃度については、硫酸鉄投与群が最高値を示し、低分子ヘム鉄投与群が最低値を示した。逆に、血清総鉄結合能と血清不飽和鉄結合能においては、低分子ヘム鉄投与群が最高値、硫酸鉄投与群が最低値を示した。クエン酸鉄投与群とヘモグロビン投与群との間では、血清鉄においてヘモグロビン投与群が高値を示す傾向があったが、いずれの測定項目においても有意差は認められなかった。糞への鉄排泄量より算出した鉄の見かけの吸収率は、硫酸鉄とヘモグロビンが 52~60% だったのに対して、クエン酸鉄と低分子ヘム鉄は 20~26% であり、明らかな差が認められた。鉄サプリメントや鉄補給剤の素材として市販されている低分子ヘム鉄の有効性は無機鉄や未処理のヘモグロビンよりも低いことから、低分子化処理によって鉄の有効性が低下していると考えられる。

講演4

重度鉄欠乏ラットにみられた血液生化学検査値の異常

横井克彦^{*1, 2)}, 許斐亜紀³⁾, 小田木美喜²⁾

(¹⁾ 聖徳大学大学院人間栄養学研究科, (²⁾ 聖徳大学人間栄養学部, (³⁾ 愛知学泉大学家政学部管理栄養士専攻)

【目的】鉄欠乏性貧血は、世界で最も有病率の高い栄養性貧血であり、鉄摂取量が少ないわが国では大きな問題である。とくに、女性では月経出血による鉄損失が多く、重度鉄欠乏性貧血も稀ではない。重度の鉄欠乏性貧血ではヘモグロビン鉄の低下に加えて、機能性鉄も低下し、その影響は血液生化学検査値に反映していると考えられる。そこで、重度鉄欠乏ラットの生化学検査値について検討した。

【方法】F344/N 系 3 週齢 雄ラット 17 匹を対照群 (AIN-93G 飼料) 10 匹と鉄欠乏群 (鉄無添加飼料) 7 匹の 2 群に分け、AIN-93G 飼料または鉄無添加飼料とイオン交換水を自由摂取させ 7 週間飼育した。血液は、腹大動脈よりヘパリン加採血し、ヘモグロビン濃度を測定した。ついで、血漿を遠心分離し、各種生化学指標を測定した。データは Student の t 検定で統計処理し、危険率 5% を有意とした。

【結果および考察】鉄欠乏群の血中ヘモグロビン濃度は、対照群の 3 分の 1 にまで低下した。また、鉄欠乏群の血漿中鉄濃度は、対照群の 3 分の 1 に低下し、鉄欠乏群のトランスフェリン飽和率は対照群の 4 分の 1 に低下した。これらのことから、鉄欠乏群ラットは、重度の鉄欠乏性貧血であることが示された。

対照群に比べて、鉄欠乏群の総タンパク濃度は有意に低下したが、アルブミン濃度はあまり変化しなかった。鉄欠乏群の A/G 比は、対照群より有意に高値を取った。鉄欠乏群の GOT は対照群の約 2 倍に上昇し、GPT も有意に高値を取った。鉄欠乏群の ALP ならびに γ -GTP は、対照群より有意に高値を取った。また、鉄欠乏群は対照群に比べてトリヨードサイロニン (T3) 濃度が有意に低く、サイロキシニン (T4) 濃度も低い傾向が見られた ($p = 0.069$)。以上の結果から、重度の鉄欠乏性貧血では、鉄栄養の生化学パラメーターだけではなく、グロブリンの低下、肝臓逸脱酵素の上昇、胆道系酵素の上昇、甲状腺ホルモンの低下など、広範な血液生化学値の異常を示すことが示唆された。

講演5

葉酸欠乏がマウスの骨量に及ぼす影響

榎原周平*, 大串美沙, 渡邊敏明

(兵庫県立大・環境人間)

【目的】水溶性ビタミンの一つである葉酸は、ヌクレオチド類の生成・分解、アミノ酸の代謝、メチル基の生成反応に関与している。欠乏症として巨赤芽球性貧血が知られているが、心血管疾患、ガンとの関連も報告されている。また、出生時における神経管障害の発生との関係から、妊娠期において重要なビタミンとして注目されている。近年、葉酸欠乏時に増加する血中ホモシステインと、高齢者の骨粗鬆症による骨折のリスクとの関連も報告されている。そこで本研究では、マウスを用いて葉酸欠乏状態が骨量および骨組成に及ぼす影響について検討した。

【方法】実験動物には3週齢のICR系雄性マウスを用いた。飼料は、1kg当たり葉酸を2mg含むAIN-93G粉末を用いた。1週間の予備飼育後、対照群と欠乏群に分け、欠乏群には葉酸を含まないAIN93Gを与えた。飼料摂取10週間後に屠殺し、血漿中、赤血球中葉酸を微生物学的定量法により測定した。血漿中ホモシステインはHPLC法により測定した。右大腿骨は、周囲の軟部組織を除去したのち、骨長、骨密度、骨重量などを測定した。

【結果および考察】血漿中葉酸、赤血球中葉酸とも対照群に比べ欠乏群で有意に低値を示した。血漿中ホモシステインは、統計学的に有意ではないが、欠乏群で高い値を示した。本実験では、両群の体重に差がなかったにも関わらず、右大腿骨の新鮮骨重量、乾燥重量、灰化重量、Ca含量が有意に低値を示した。また骨長も低値を示した。一方、骨密度に違いは見られなかった。以上のことから、葉酸欠乏により、骨の形成過程に異常が生じている可能性が示唆された。

講演6

魚肉タンパク質および魚肉ペプチド給餌によるラットの脂質吸収に及ぼす影響

細見亮太^{*1}、深尾 翠¹、福永健治¹、於久野元希¹、八木田隆太¹、神田靖士²、西山利正²、吉田宗弘¹

(¹) 関西大学化学学生命工学部生命・生物工学科、² 関西医科大学公衆衛生学講座)

【目的】魚介類摂取による脂質代謝改善効果は、イコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸といったn-3系高度不飽和脂肪酸の機能性であると考えられてきた。しかし日常の食生活において、魚油のみを選択的に摂取することはなく、魚肉として摂取している。われわれは魚肉に含まれているタンパク質に着目し、魚肉タンパク質(FP)およびFPを加水分解した魚肉ペプチド(FPH)が血清脂質成分に及ぼす影響について明らかにすることを目的にラットを用いて検討を行った。さらに、血清コレステロール(CHOL)低下機序として、糞へのCHOLおよび胆汁酸(BA)排泄促進作用を明らかにするため*in vitro*系での評価も行った。

【方法】<動物実験> FPは脱脂タラ肉を用い、パパインを用いてペプチド化したものをFPHとした。被験動物として5週齢Wistar系雄ラットを用いた。AIN93標準食のカゼインの50%をFPおよびFPHに置換した群、さらにCHOL0.5%+コール酸0.1%を添加した群の6群を設け4週間飼育した。飼育期間終了後、血清および肝臓を採取し脂質成分測定を行った。また、糞へ排泄されたCHOLおよびBAの定量を行った。

<*In vitro*実験> カゼイン、FPおよびFPH人工消化分解物のCHOLミセル溶解性とBA結合能について検討した。

【結果】試験群間における餌料摂取量および成長に有意な差はみられなかった。FPおよびFPHを給餌することにより、中性脂質、CHOL、低密度リポタンパク質CHOLの低下、肝臓については中性脂質、CHOLの低下が確認された。また糞へのCHOLとBA排出増加がみられた。*In vitro*系でFPおよびFPH人工消化物のBA結合能とCHOLミセル溶解性におよぼす影響をカゼイン人工消化物と比較したところ、FP人工消化物はBA結合能が高く、CHOLミセル溶解性を低下させた。さらにFPH人工消化物はFP人工消化物に対し、BA結合能が高かった。FPおよびFPH給餌による糞へのCHOL排出増加は小腸内腔でのCHOLミセル溶解性低下、BA排泄増加はBA結合能増加によると推測される。

【考察】本研究により、FPおよびFPHが高脂血症・動脈硬化などの生活習慣病予防に有効であることが示唆された。

講演7

海藻摂取がラットのカルシウムとマグネシウム吸収に及ぼす影響

中村江里*, 横田大樹, 松井 徹
(京大院農・動物栄養)

【目的】海藻はミネラルと食物繊維を豊富に含んでいる。海藻摂取はミネラル吸収率を低下させることが報告されており、その一因として海藻に含まれる食物繊維によるミネラル吸着が示唆されている。海藻には緑藻類、褐藻類、紅藻類があるが、それぞれ含まれる繊維の種類は大きく異なっており、そのため海藻によってミネラル吸着性に差があることが考えられる。そこで本試験では様々な海藻摂取が Ca と Mg 吸収に及ぼす影響について検討した。

【方法】第一試験では、アオサ（緑藻）、コンブ（褐藻）またはフノリ（紅藻）を人工消化し、Ca と Mg 溶解率を測定した。第二試験では AIN-93G 飼料、または AIN-93G 飼料のセルロースをアオサ、コンブまたはフノリで代替し、Ca と Mg 量を一定に調整した飼料を3週齢のSD系オスラットに4週間給与した。飼料給与開始9日後～14日後（前期）および23日後～28日後（後期）に糞を採取し、Ca と Mg の見かけの吸収を検討した。さらに消化管上皮の細胞内 Ca 輸送タンパク質であるカルビンディン 9K(CBD9K)の mRNA と Ca インポーターである TRPV6 の mRNA ならびに Mg インポーターである TRPM6 の mRNA を測定した。

【結果と考察】（第一試験）他の海藻と比べフノリ中 Ca の人工消化後の溶解率は高く、コンブとアオサ中 Ca 溶解率に差は無かった。アオサ中 Mg の人工消化後の溶解率は他の海藻と比べ低く、コンブとフノリ中 Mg の溶解率に差は無かった。

（第二試験）前期における Ca 吸収率はアオサ区では対照区より低く、コンブ区では対照区より高かった。しかし、後期では各飼料区間に差は認められなかった。小腸上部の CBD9K mRNA と TRPV6 mRNA ならびに盲腸の TRPV6 mRNA 発現は給与飼料の影響を受けなかった。一方、盲腸の CBD9K mRNA 発現は他区に比べコンブ区で高かった。Mg 吸収率は両期とも、対照区とコンブ区に差は認められなかったが、これらと比べ、アオサ区とフノリ区の Mg 吸収率は低かった。小腸上部では TRPM6 mRNA 発現は認められなかった。一方、盲腸における TRPM6 mRNA 発現は対照区と比べコンブ区で高い傾向を示した。

以上の結果から、Ca と Mg 吸収に及ぼす影響は海藻の種類によって大きく異なることが示された。また、海藻のミネラル吸着能と吸収の明瞭な関係は認められなかった。

講演8

ラット大脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 を用いた TBT 暴露によって誘導される細胞内カルシウムの増加と細胞死誘導メカニズムの解析

富山健一^{1, 5)}, 栗山孝雄^{2, 5)}, 中島晴信³⁾, 小川康恭⁴⁾, 荒川泰昭^{4, 5)}

(¹⁾ (独)国立精神・神経医療研究センター, (²⁾ 東北生活文化大学, (³⁾ 大阪府立公衆衛生研究所,

(⁴⁾ (独)労働安全衛生総合研究所, (⁵⁾ 静岡県立大学)

【目的】当研究室では、トリブチル錫 (TBT) の毒性発現のメカニズムを解析する過程で、TBT の脳内暴露に伴い、脳内各組織中の微量元素バランスが著しく変動し、嗅球や海馬において Ca²⁺が過剰かつ選択的に蓄積することを見出している。TBT は血液脳関門を通過して脳組織に移行することから、今回我々は血液脳関門の閉鎖機能の維持に寄与しているアストロサイトに対する TBT の影響を Ca²⁺関与の細胞死に着目して検討した。

【方法】実験1. ラット大脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 に TBT を 1 μM 曝露し、アポトーシスの指標として caspase-3、ネクロトーシスの指標として Propidium Iodide を用いてフローサイトメトリーで評価した。また、細胞死における Ca²⁺の関与を検討するため TBT 曝露前に Ca²⁺を含まない Dulbecco's PBS (DPBS) 条件下または BAPTA-AM 処理を行った細胞で同様の実験を行った。

実験2. TBT 曝露後の細胞内 Ca²⁺の増加が細胞死誘導に関与しているか調べるために、細胞内 Ca²⁺変化を Fura2-AM で、Ca²⁺依存型アポトーシス因子として calpain の活性を解析した。

実験3. アポトーシスの誘導にはミトコンドリアの関与も報告されている。そこでミトコンドリアへの影響を調べるためにミトコンドリア膜電位の変化を蛍光色素 JC-1 とフローサイトメトリーで、ミトコンドリアからの cytochrome c 遊離の解析をウエスタンブロットリングで解析した。

【結果と考察】TBT 曝露によって RCR-1 は、caspase-3 の活性化を伴うアポトーシス誘導が確認された。またこのとき、細胞内 Ca²⁺濃度は著しく増加し、さらに細胞内 Ca²⁺の増加に伴って calpain の活性増加が認められた。Ca²⁺キレート剤 BAPTA-AM や Ca²⁺を含まない DPBS を用いると、細胞死や calpain 活性は有意に抑制された。また、ミトコンドリアの膜電位も経時的に低下し、それに伴ってミトコンドリアから cytochrome c の遊離が確認された。以上の結果から、TBT による RCR-1 の細胞死は、細胞内 Ca²⁺の増加に伴うアポトーシス誘導とミトコンドリアによるアポトーシス誘導という少なくとも2つのメカニズムによって誘導されることが示唆された。

講演 9

クズイソフラボノイドによるマウス骨髄破骨細胞の分化抑制

田中照佳*, 内山貴裕, 唐 漢軍, 鶴澤有希, 森山達哉, 河村幸雄
(近畿大学大学院農学研究科応用生命化学)

【目的】骨粗鬆症は、骨量の減少と骨内部の構造変化という生理現象が過度に進行した疾患である。骨量は加齢により減少するが、とくに女性は閉経をむかえる 40～50 歳代以降に急激な骨量減少がみられる。骨は、体の支持組織としての役割だけでなく、カルシウム代謝や細胞の分化成熟を担う組織である。したがって、骨粗鬆症は生活の質 (QOL) の低下をもたらすため、その予防食品素材の開発が囑望されている。そこで本研究では、未利用植物クズに着目し、クズ蔓エタノール抽出物 (PVEE) の経口摂取が骨粗鬆症モデルマウスの骨吸収と骨組織に与える影響を検討した。

【方法】PVEE 中のイソフラボノイド含量は、HPLC で定量した。Slc:ddY 系統の雌マウス (9 週齢) を卵巣摘出手術 (OVX) し、PVEE を 20 mg/kg の用量で 8 週間経口摂取させ、骨吸収マーカーの尿中 Deoxypryidinoline (DPD)、血中および骨髄細胞 Tartarate Resistant Acid Phosphatase (TRAP) 活性を測定し、大腿骨遠位部における TRAP 陽性破骨細胞の観察を行った。骨密度の測定は X 線 CT により、骨髄細胞における TRAP の mRNA レベルは RT-PCR により検討した。また、大腿骨研磨標本を作製し、骨微細構造を観察した。

【結果】PVEE 中には、クズ特有のイソフラボノイドであるプエラリン等のイソフラボノイドが豊富に存在していた。OVX マウスにおける骨髄 TRAPmRNA レベルおよび骨吸収マーカー (DPD, TRAP 活性) は、PVEE の経口摂取により有意に減少し、破骨細胞の骨吸収機能の抑制が示された。また、PVEE の摂取は TRAP 陽性破骨細胞数を顕著に減少させた。これらの結果は、PVEE の経口摂取が OVX マウスの骨髄破骨細胞の分化成熟を下方制御することで、骨吸収を遅延させ、骨量減少を抑制することを示唆した。事実、PVEE 摂取 8 週後の OVX マウスの骨密度の測定および大腿骨標本の観察では、PVEE 摂取群において PVEE 非摂取群よりも骨密度は高く、骨内部組織がよく維持されていた。

講演 10

山羊乳の飲用と血中ミネラル濃度に関する基礎的研究

金 天浩*¹⁾, 尹 教福²⁾, 鄭 行俊²⁾, 金 玉星²⁾
(¹⁾ 江原大学校獣医科大学, ²⁾ 江原道家畜衛生試験所)

【目的】放牧乳用山羊の乳は人乳と類似な成分を含有していることが知られていて、とくに Ca, K, Cu, Mn, Se などの種々ミネラルと中鎖脂肪酸 (medium chain fatty acids: MCT) およびタウリンなどの生理的機能がほぼ究明されている成分の含量が牛乳に比べて多量に含まれていることが報告されており、ヨーロッパなどでは古くから飲用されてきた。本研究では、山羊乳の生理的機能を解明するための基本的知見を得る目的で、韓国の南の山地で放牧飼育している乳用山羊が生産する乳中に含まれているミネラル (Fe, Zn, Ca, Cu) 含量を測定するとともに、4 群に分けた離乳直後のマウスを用いて山羊乳の飲用が血中ミネラル濃度に及ぼす影響を検討した。

【方法】実験動物としては 4 週齢 BALB/C 系雄マウス 40 匹を用いた。1 週間適応させた後、1 群あたり 10 匹ずつ、対照群 (C) と山羊乳の供給量が異なる実験群 3 群 (各群あたり 1 日給与量 50, 100, 150mL; G-50, G-100, G-150) の 4 群に分け、14 日間飼育した。実験期間中、固形飼料と蒸留水は自由摂取させた。飼育後、一晩絶食させ、エーテル麻酔下、断頭切断して採血し、血漿ミネラル濃度を ICP-OES を用いて測定した。

【結果および考察】試験に用いた山羊乳中の Fe, Ca の含量は牛乳に比べ、やや高値を示した。各群の間に体重増加量には有意な差は認められなかった。血漿中のミネラル含量は G-50, G-100, G-150 群において対照群に比較し、高い濃度を示したが、給与量による差は認められなかった。

講演 11

ポリアミンの細胞毒性

村上恵子^{*1)}, 細川好孝¹⁾, 吉野昌孝²⁾

(¹⁾ 愛知医大・医・生化, ²⁾ 金城学院大・食環境)

【目的】 ポリアミンは多くの組織で細胞内成長因子として働き、タンパク質・脂質合成その他の酵素反応促進に関与している。ポリアミン自体は抗酸化効果を持つ一方、アポトーシスを誘導することも知られており、活性酸素生成能も推測されている。またある種の細胞に対する直接の毒性作用も報告されている。

今回ポリアミンが酵母細胞において活性酸素生成によるアコニターゼの失活を促進し、さらに精製グルタチオンレダクターゼを阻害してプロオキシダントとして働くことを見出したので報告する。

【方法】 1. パン酵母アコニターゼは 0.1mM NADH 存在下で失活した。この失活はシアンまたはアジ化ナトリウムによって促進された。スペルミンはシアンによる失活をさらに促進したがアジ化ナトリウムに対しては効果がなかった。

2. ナフトキノンのメナジオン、プランバギンは酵母アコニターゼを失活させた。この効果は NADPH 添加によって大きく促進された。スペルミンの失活促進作用は特に NADPH 存在下で強力であった。この失活はアジ化ナトリウムによってさらに増強された。

3. スペルミン、スペルミジン、それぞれの有効濃度は 0.1~0.5 mM, 0.5~1 mM であった。プトレシンは 2 mM 以上で弱い失活効果を示した。

4. スペルミンはグルタチオンレダクターゼを *in vitro* で阻害した。阻害形式は GSSG に対して非拮抗型、NADPH に対して拮抗型であった。Ki は 5~10 mM と求められた。

【結果および考察】 以上の結果からポリアミン、とくにスペルミンは低濃度で NAD(P)H あるいはキノン依存性の活性酸素生成酵素を促進し、スーパーオキシドアニオンラジカルあるいは過酸化水素を生成することが示唆された。さらにポリアミンは高濃度で活性酸素処理系であるグルタチオンレダクターゼの阻害によって細胞毒性を示す可能性があると推測される。

ポスターセッション

ポスター 1

微生物が D-リシンを利用するのに必須な酵素，アルギニンラセマーゼの構造特性

松井大亮*¹⁾，老川典夫^{1, 2)}

(¹⁾ 関西大学大学院工学研究科，²⁾ 関西大学化学生命工学部)

【目的】先にわれわれは，低基質特異性アミノ酸ラセマーゼであるアルギニンラセマーゼ (ArgR) が，*Pseudomonas taetrolens* NBRC 3460 の D-リシン資化に必須な酵素であることを報告した¹⁾。本研究では，本酵素の構造とフォールディング機構を MALDI-TOF MS を用いて解明することを目的とする。

【方法】MALDI-TOF MS を用いたジスルフィド結合の検出：精製 ArgR を尿素で変性後，以下の 2 つの条件で処理した：(A) DTT による還元後，ヨードアセトアミドでアルキル化，(B) ヨードアセトアミドでアルキル化。(A) および (B) の処理後および未処理の尿素変性 ArgR を，トリプシン消化後 MALDI-TOF MS で分析した。

部位特異的変異導入による C47A/C73A-ArgR の構築：オーバーラップエクステンション法で C47A/C73A-ArgR 遺伝子を構築後，ArgR 遺伝子と同様に大腸菌で発現し，C47A/C73A-ArgR を精製した。精製 ArgR と精製 C47A/C73A-ArgR の発現量，構造，基質特異性を比較した。

【結果および考察】ジスルフィド結合の発見：MALDI-TOF MS によるペプチドフラグメント解析の結果，ArgR には Cys47 と Cys73 との間にジスルフィド結合が存在することが明らかになった。PLP 要求性のアミノ酸ラセマーゼでは，ArgR がジスルフィド結合を有する最初の例である。

ArgR におけるジスルフィド結合の機能：2 つの Cys 残基を Ala 残基に置換した C47A/C73A-ArgR の基質特異性は，野生型酵素と比べ，アラニンに対する特異性は増加し，アルギニン，リシン，オルニチン等に対する特異性は減少した。しかし，ArgR を嫌気ボックス中で DTT で還元し，Cys47-Cys73 間のジスルフィド結合を還元・切断した ArgR (還元型) の基質特異性は，親酵素とよく一致した。これらの結果から，ArgR の Cys47-Cys73 間のジスルフィド結合は，ArgR を低基質特異性アミノ酸ラセマーゼにフォールドさせるために重要な機能を果たしていることが明らかになった。

【参考文献】1) D. Matsui, T. Oikawa *et al.*, (2009) Appl. Microbiol. Biotechnol., 83: 1045-1054.

ポスター 2

ウマに対する異なるビタミン K 剤補給が血漿中ビタミン K 同族体濃度に及ぼす影響

寺地智弘*¹⁾，岡本直也¹⁾，井上喜信²⁾，蘆原永敏²⁾，松井 徹¹⁾

(¹⁾ 京大院農・動物栄養，²⁾ JRA 日高)

【目的】ビタミン K には，ビタミン K₁，ビタミン K₂ (メナキノロン類)，ビタミン K₃ があり，動物体内でメナキノロン 4 に変化する。ビタミン K の中でメナキノロン 4 のみが転写因子である SXR の活性化を介して骨芽細胞分化を促進することから，メナキノロン 4 が「活性型」ビタミン K であることが示唆されている。従来，ウマでは飼料中のビタミン K₁ や消化管内で合成されるメナキノロン類によりビタミン K 要求量は満たされていると考えられていたが，近年，ビタミン K 不足が生じることが報告されるようになった。ヒトではビタミン K₁，メナキノロン 4 ならびにメナキノロン 7 がビタミン K 源として用いられている。また，ウマ以外の家畜にはビタミン K₃ が用いられる場合が多い。しかしながら，ウマに対するビタミン K 補給試験はわれわれのビタミン K₃ 補給を行った先行試験以外に報告はない。本試験では異なるビタミン K 剤補給がウマの血漿中ビタミン K 同族体濃度に及ぼす影響を検討した。

【方法】サラブレッド種成馬を，58 μmol/d のビタミン K₁，メナキノロン 4，メナキノロン 7 またはビタミン K₃ を飼料と混合し一週間補給する 4 区と対照区 (n = 4 または 5) に，性別，年齢，体重がほぼ一定となるように割り当てた。最終日の飼料給与前および給与 2，4，8 時間後に血漿を得て，Sep-Pak Silica カートリッジによるクリーンアップ後に，白金カラムと蛍光検出器を装着した HPLC により血漿中ビタミン K 同族体 (ビタミン K₁，メナキノロン 4，メナキノロン 7) 濃度を測定した。

【結果】ビタミン K₁ 区とメナキノロン 7 区では，飼料給与前からそれぞれの血漿中濃度は対照区と比べ高く，給与 2~4 時間後にさらに上昇した。また，飼料給与前ならびに飼料給与後最大となる血漿中濃度はビタミン K₁ と比べメナキノロン 7 で高かった。ビタミン K₃ 区では，給与前から血漿中メナキノロン 4 濃度は他区と比較し高く，飼料給与後も一定の高値を維持した。ビタミン K₁ 区，メナキノロン 4 区ならびにメナキノロン 7 区の血漿中メナキノロン 4 濃度は対照区との間に明瞭な差は認められなかった。

【考察】ウマにおいて，ビタミン K の血漿中動態は同族体により大きく異なること，ウマにおいて血漿中メナキノロン 4 濃度を上昇させるにはビタミン K₃ が適していることが示唆された。

ポスター 3

フラビン酵素 2-ハロアクリル酸ヒドラターゼの二機能性：FADH₂ 依存的な水付加活性と NADH 依存的な FAD 還元活性

Amr M. Mowafy*, 栗原達夫, 江崎信芳
(京大・化研)

【目的】FAD や FMN は一般に酸化還元酵素の補酵素として機能するが、数は少ないものの、酸化還元以外の反応における補酵素として機能する例が知られている。我々は有機ハロゲン化合物の微生物分解機構を研究する過程で 2-クロロアクリル酸 (2-CAA) や 2-ブロモアクリル酸への水付加反応を触媒する新規フラビン酵素 2-ハロアクリル酸ヒドラターゼを見いだした。本酵素の機能解明を目的として研究を行った。

【方法】2-CAA を炭素源として生育する微生物を土壌から分離し、16S rRNA 配列解析によって同定した。2-CAA 資化性微生物が 2-CAA を資化する際に誘導生産するタンパク質を二次元電気泳動解析によって同定し、遺伝子をクローン化した。大腸菌を宿主として本タンパク質を高生産し、均一に精製して機能解析を行った。

【結果・考察】土壌から分離した 2-CAA 資化性細菌 *Pseudomonas* sp. YL は、2-CAA を炭素源として生育する際、547 アミノ酸残基からなる推定分子量 59,301 のタンパク質 CAA67_YL を誘導的に生産する。精製した CAA67_YL が還元型 FAD 依存的に 2-CAA をピルビン酸に変換する反応を触媒することを見いだした。H218O 中の反応では [18O] ピルビン酸が生成したことから、本酵素は水付加反応を触媒することが明らかとなった。2-CAA の炭素-炭素二重結合への水付加によって 2-クロロ-2-ヒドロキシプロピオン酸が生成し、ここから塩化水素が脱離することでピルビン酸が生成するものと考えられた。2-ブロモアクリル酸に対して同様の活性を示す一方、アクリル酸やメタクリル酸には作用しなかったことから、本酵素を 2-ハロアクリル酸ヒドラターゼと命名した。本酵素は還元型 FAD 依存的な水付加反応を触媒する点でユニークなフラビン酵素である。次に本酵素反応に要求される FADH₂ の生成機構を調べた。一次構造解析の結果、CAA67_YL は NAD(P)H 結合モチーフと考えられる配列 AXXGXXG を 205 番目から 211 番目のアミノ酸残基としてもつことを見いだした。本酵素が NADH または NADPH による FAD の還元活性をもつか調べた結果、NADH の存在下、FAD の還元を触媒することが示された。CAA67_YL は NADH 依存的な FAD 還元活性と、FADH₂ 依存的な 2-ハロアクリル酸への水付加活性を併せもつ二機能性酵素であることが明らかとなった。

ポスター 4

カキ肉エキスを投与したラットの血清亜鉛濃度の変化

安部麻美子*¹⁾, 松田芳和¹⁾, 小邨奈未¹⁾, 福永健治²⁾, 吉田宗弘²⁾
(¹⁾ 日本クリニック(株)・中央研究所, ²⁾ 関西大・化学生命工学部)

【目的】われわれは、以前に、亜鉛は供給が途絶えると比較的早期にその影響が出現するので、毎日適量を摂取するのが望ましいと報告した。カキは高濃度の亜鉛を含むため、カキを原料としたカキ肉エキスを定期的に摂取することが亜鉛補給につながると期待される。しかし、市販カキ肉エキスの亜鉛濃度は様々であり、亜鉛補給が期待できないものも存在する。本研究では、複数種の市販のカキ肉エキスを収集し、それらの亜鉛補給効果をラットを用いて比較した。

【実験方法】実験 I：硫酸亜鉛を用いた亜鉛濃度 20 ppm の亜鉛充足飼料を 1 週間与えた 11 週齢の Wistar 系雌ラット (体重約 220 g) を 2 群に分け、1 群には引き続き充足飼料を、もう 1 群には充足飼料から硫酸亜鉛を除いた亜鉛欠乏飼料を与え、さらに 4 日間飼育した。これら 2 群をさらに 2 群ずつに分け、それぞれにゾンデを用い、欠乏飼料に混合した硫酸亜鉛またはカキ抽出物を 1 mg 亜鉛/kg・体重経口投与し、投与 0~4 時間後の血清亜鉛濃度を測定した。なお、ゾンデ投与前日はすべてのラットに欠乏飼料を与えた。実験 II：亜鉛含量が異なる 3 種のカキ肉エキスを収集した。9 週齢の Wistar 系雌ラット (体重約 180 g) を亜鉛欠乏飼料で 5 日間飼育後、3 群に分け、それぞれにこれらのカキ肉エキスを欠乏飼料に混合した状態でゾンデを用い経口投与した。なお、カキ肉エキス投与量は、各エキスの表示推奨摂取量より定めた。投与 0~4 時間後の血清亜鉛濃度を測定した。

【結果と考察】実験 I において、亜鉛充足飼料を与えてきたラットの投与前血清亜鉛濃度は、欠乏飼料を与えてきたラットに比較して有意に高値だった。各群ラットに亜鉛を投与すると、血清亜鉛濃度は、投与亜鉛の形態とは無関係に投与 1~2 時間後をピークとして上昇した後、低下した。投与 2 時間後の血清亜鉛濃度と血清亜鉛濃度の変化を積分した曲線下面積 (AUC) は、欠乏飼料を与えてきたラットが充足飼料を与えてきたラットに比較して有意に高値だった。実験 II において、各群ラットの血清亜鉛濃度は、実験 I と同様に投与 1~2 時間後をピークとして上昇した後、低下した。投与 1~2 時間後の血清亜鉛濃度と AUC は、各群間に有意差が認められ、カキ肉エキスの亜鉛濃度をよく反映していた。カキ肉エキス中の亜鉛は亜鉛充足時、欠乏時ともに硫酸亜鉛と同等に利用されると判断される。

ポスター5

亜鉛欠乏下における腎臓中ヘムオキシゲナーゼ-1 濃度の変化

許斐亜紀^{*1)}, 横井克彦²⁾

(¹⁾ 愛知学泉大学家政学部管理栄養士専攻, (²⁾ 聖徳大学大学院人間栄養学研究所)

【目的】亜鉛の投与が鉄不応性貧血に有効であるという報告があるが、造血機構における亜鉛の作用メカニズムは不明である。われわれは、中等度亜鉛欠乏により血中エリスロポエチン (EPO) 濃度が低下することをすでに報告している (Biol Trace Elem Res 107: 289-292, 2005)。本報告では、中等度亜鉛欠乏が腎臓中ヘムオキシゲナーゼ (HO-1) 濃度に与える影響を調べたので報告する。

【方法】Sprague-Dawley 系 3 週齢 雄ラットを対照群 (AIN-93G; CON), 亜鉛欠乏群 (Zn 4.5 mg/kg diet (4.5 ppm); ZD), Pair-Fed 群 (AIN-93G; PF) の 3 群に体重が等しくなるように 10 匹ずつ振り分け、各飼料とイオン交換水を摂取させ 4 週間個別飼育した。腎臓中 HO-1 濃度を測定し、網状赤血球 (Ret) データとあわせて赤血球産生への影響について検討した。データは Fisher の PLSD で統計処理を行い、有意水準は 5% とした。

【結果】腎臓中 HO-1 濃度は、CON 群がもっとも高値を示し、ZD 群がもっとも低値を示した。3 群間のすべての組み合わせで有意な差が見られた。Ret は HO-1 濃度と同じパターンを示し、CON 群に比べて ZD 群は有意に低値を示し、PF 群は低い傾向を示した。

【考察】中等度の亜鉛欠乏は血中 EPO だけでなく腎臓での EPO 生産にも影響を与えており、かなり早い段階で造血障害を起こすことが示唆された。また、PF 群のデータより長期的な食事量の低下は、中等度の亜鉛欠乏より緩やかではあるが造血障害を起こす可能性が示された。

本研究は科学研究費補助金 (21800073) の助成を受けたものである。

ポスター6

茶系飲料の投与がラットの鉄栄養状態に及ぼす影響

安井 萌*, 小野寺佳奈, 細見亮太, 福永健治, 吉田宗弘

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

【目的】茶はコーヒーとともに世界中で嗜好されている。近年では緑茶中カテキン類の健康効果が注目され、意図的にカテキン濃度を高めた緑茶飲料が販売されている。しかし、茶のカテキン類はタンニンと呼ばれ、鉄をはじめとするミネラル類の吸収やたんぱく質の消化を抑制する「反栄養物質」であり、貧血治療用の鉄剤を茶浸出液で服用するのは禁忌とされてきた。しかし、茶の鉄栄養に対する悪影響については否定的な研究も多いため、鉄摂取が十分な成人では、茶の飲用が鉄の栄養状態を低下させる明確な証拠はなく、鉄欠乏のリスクを持つ人において、茶を食間に飲用する、または食後 1 時間控えることで十分とされている。本研究では、ラットに茶系飲料を摂取させ、鉄栄養に関する血液検査項目と臓器中鉄、および亜鉛濃度を測定することによって、茶の飲用が鉄、および亜鉛栄養に及ぼす影響を検討した。

【実験方法】4 週齢の Wistar 系雄ラット 36 匹を 6 群に分け、うち 2 群には鉄塩を除いた AIN93G 飼料に、硫酸第一鉄を鉄濃度 12.5 または 25 mg/kg 添加した飼料、残りの 4 群には、これら 2 種の飼料に市販ペットボトル入り緑茶飲料 (総フェノール濃度、0.70 mg カテキン当量/mL)、または高カテキン緑茶飲料 (同、3.19 mg/mL) を 800 mL/kg の割合で添加した飼料を与え 4 週間飼育した。飼育終了前 3 日間の糞を、および飼育期間終了後の血液、肝臓、腎臓、小腸、脾臓、大腿骨を採取した。採取試料の鉄と亜鉛濃度をフレイム式原子吸光度計で測定するとともに、血球計算と鉄に関する血清生化学検査を行った。

【結果と考察】飼育期間中の体重増加、終了後の臓器重量、さらに鉄栄養指標以外の血清生化学検査項目は群間で差を認めなかった。ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清鉄濃度、糞への鉄排せ量、および臓器の鉄濃度は、茶飲料の投与とは無関係に、高い鉄濃度の飼料 (鉄濃度、25 mg/kg) を与えた群が低い鉄濃度の飼料 (同、12.5 mg/kg) を与えた群よりも高かった。また、血清総鉄結合能は、茶飲料の投与とは無関係に、鉄投与量が少なかった群において高値だった。一方、臓器中亜鉛濃度は、茶飲料投与とは無関係に、鉄投与量の少ない群においてやや高値だった。飼料中鉄濃度 12.5 mg/kg という鉄摂取量の少ない状態においても、茶飲料の投与が鉄栄養状態に影響しなかったことから、緑茶浸出液成分、とくにカテキン類の鉄栄養に及ぼす影響はほとんどないと考えられる。なお、鉄投与の少ない群で臓器中亜鉛が高値だったのは、低鉄栄養状態下において、鉄吸収に関与する 2 価カチオン輸送体の発現量が増加したことを反映したものと解釈できる。

ポスター7

トリブチル錫曝露による嗅覚障害発症メカニズムの解析

富山健一^{*1, 4)}, 中島晴信²⁾, 小川康恭³⁾, 荒川泰昭³⁾, 熊谷裕通⁴⁾

(¹⁾ (独)国立精神・神経医療研究センター, ²⁾ 大阪府立公衆衛生研究所, ³⁾ (独)労働安全衛生総合研究所, ⁴⁾ 静岡県立大学)

【目的】 トリアルキル錫化合物は、血液脳関門を通過して脳組織に移行することから、その中枢神経毒性についてよく研究されている。トリアルキル錫のうち、トリブチル錫 (TBT) 急性曝露による動物実験では、記憶や行動、嗅覚の障害および嗅球中の微量元素の顕著な変動が報告されているが、その組織病理を含めた検討は他のトリアルキル錫と比べて少ない。そこで本実験では、TBT の嗅覚障害を含めた中枢神経毒性に着目し動物実験を行った。

【方法】 実験 1. Wistar 系ラット (6 週齢, 雄性, 170 g) に、コーンオイルで溶解した TBT を 2.5 mg/kg body weight ずつ腹腔内投与し、24 時間後と 96 時間後に嗅覚試験を実施した。鼠類の忌避剤として用いられているシクロヘキシミド (CYH) は特有の臭いと苦味を持つため、ラットは学習によりこれを含む水を避け蒸留水のみを飲むようになる。CYH 濃度は 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm とし、学習を行ってこれらの濃度全てを忌避するようになるまで訓練を行った。この学習ラットを用いて TBT 曝露後に水と CYH 含有水を判別させる試験を行った。

実験 2. 同条件のラットより TBT 曝露 24, 48, 72, 96 時間後の嗅球を摘出し、嗅球中 TBT をトリエチルホウ酸ナトリウムで誘導体化し GC/MS 定量分析を行った。

実験 3. 嗅球の病理的变化を Hematoxylin-Eosin (HE) 染色および TdT-mediated dUTP-biotin Nick End Labeling (TUNEL)法によって調べた。

【結果と考察】 ラットの臭い判断能力は、TBT 曝露前には CHY 含有水の忌避率 100%であったが 96 時間後には 0.1~10 ppm の間で忌避率が 50%まで低下し嗅覚能力が低下したと考えられた。また、GC/MS を用いたエチル誘導体化による TBT 分析によって、嗅球中 TBT 濃度は 24 時間で最大となり、以後速やかに減少することが確認された。嗅球組織では、TBT 曝露 24 時間および 96 時間の嗅球糸球体、僧帽細胞層、顆粒細胞層で細胞脱落を認め、その原因は TUNEL 染色によってアポトーシスであることが確認された。以上の結果から、TBT は体内に取り込まれると速やかに嗅球に移行し、嗅球組織内でアポトーシスを誘導し、その結果ラットは嗅覚異常に至ると考えられた。

ポスター8

ラットにおける飼料中ルビジウムと組織中ルビジウムの用量効果関係の検討

内田由佳^{*1)}, 許斐亜紀²⁾, 横井克彦¹⁾

(¹⁾ 聖徳大学大学院人間栄養学研究所, ²⁾ 愛知学泉大学家政学部)

【目的】 ルビジウム (Rb) は必須性が確立されていない微量元素の中で生体内にもっとも多量に存在している元素の一つである。その供給源は野菜・果物・肉等であり、人は日常的に Rb を摂取している。Rb に関しては Rb 欠乏食摂取によるヤギ受胎率の低下、ラット組織中 Rb 濃度の低下・血液尿素窒素の上昇等の報告があり、その必須性が指摘されている。イタリアでは抗鬱薬としての治験も行われている。しかし、摂取用量の異なる Rb がどのように組織中 Rb 濃度に反映されるのか明らかではないので、給与レベルの異なる Rb が組織中 Rb 濃度に及ぼす影響について検討した。

【方法】 4 週齢 Wistar 系雄ラット 62 匹を 8 群に分け、飼料中添加レベルの異なる Rb (0, 4, 8, 25, 50, 100, 200, 1,000 ppm) を給与した。飼料ならびに飲料水は自由摂取とした。飼料給与開始後 46 日目に血液および各種組織を採取した。採取した血液・脳・心臓・肝臓・腎臓・精巣・筋肉・脛骨中 Rb 濃度を蛍光法で測定した。データは Williams 検定により解析し、危険率 5%を有意とした。

【結果および考察】 最終体重および平均摂食量はすべての群間に有意差はなかった。組織および血液中 Rb 濃度には、Rb の給与レベルに応じて高値を取る用量効果関係が認められた。飼料中 Rb レベル 1 ppm 当たりの肝臓中 Rb 濃度の増加は、飼料中 Rb レベル 8~25 ppm で緩やかとなり、25~50 ppm 間で大きくなった後、再び 100~200 ppm 以上で緩やかとなった (飼料中 Rb (ppm) : 肝臓中 Rb 増加量 (μg/g/ppm), 0~4 : 6.6, 4~8 : 7.8, 8~25 : 4.4, 25~50 : 10.7, 50~100 : 12.9, 100~200 : 7.8, 200~1,000 : 6.1)。腎臓・精巣中 Rb 濃度でも肝臓と同様の用量効果関係が示された。血液・脳・心臓・骨では肝臓とはパターンが異なり、飼料中 Rb レベル 50~100 ppm で組織中 Rb 濃度の増加量が、それ以下のレベルより大きくなった。すべての組織において、Rb 濃度の増加量が 50~100 ppm のレベルでそれ以下よりも大きくなったことから、飼料中 Rb レベル 50~100 ppm 以上が中毒領域であると推察された。

本研究実施に当たり、笹川科学研究助成の援助を受けた。

ポスター 9

ラットにおける妊娠前期の極端な制限食が生後仔ラットの体組成に及ぼす影響

鈴木美季子*, 森 恵見, 中西由季子, 木村修一
(昭和女子大学大学院生活機構研究科)

【目的】妊娠初期に低栄養状態であると、肥満発症のリスクが高くなるとの報告がある。低栄養状態を反映していると考えられる低出生体重に引き続く急速なキャッチアップグロースが肥満リスク因子になると言われている。ダイエットをしている女性が妊娠をした場合、何よりも妊娠初期の栄養に影響を及ぼす可能性は大きい。われわれは、ラットの妊娠前期に食餌制限が施された影響が、仔ラットに及ぼす影響について検討しており、生後4日目の体重・体長を比較した際、前期制限群はコントロール群と比較して体重が有意に重く、体長が長い傾向にあった結果を得ている。このことから、妊娠初期の母乳成分の高値を予想したが、初乳の成分には両群間で差がなかった(第26回微量栄養素研究会発表)そこで、今回は母乳の影響が少ない、生後1日目に焦点をおき、前期制限群に及ぼす影響について体組成等を測定することによって検討した。

【方法】ラットを交配させ、妊娠前期にコントロール群が摂取した食餌量の50%の食餌量を与える群を作成し、妊娠前期食餌制限モデルを作成した。コントロール群は24時間自由摂食とした。妊娠前期食餌制限モデルを作成した後、生後すぐの状況を検討するために、生後1日目に出産数・雌雄の誕生比率・体重・体長および体組成を分析した。

【結果・考察】体重当たりでの体組成成分を比較したところ、雄の灰分において、コントロール群は、前期制限群と比較して有意に高い結果となった。体重当たりでなく、個体1匹ごとに比較した結果、雄においてタンパク質・脂肪がコントロール群と比較して前期制限群で高い傾向にあった。雌においては、変化がなかった。妊娠前期に食餌制限をかけると、制限食解除後の母親の摂食量が増す結果が得られており、仔ラットへ栄養がコントロール群よりも十分に取り入れられることになり、胎仔期における成長が良く、このような結果をもたらしたと考えるのか、妊娠前期に母親が食餌制限されていたことにより仔ラットへの栄養が足りなかったことで、仔ラット自身が胎生期に少ない栄養を体に蓄積しようとし、成長に影響を及ぼした可能性も考えられるがこれについても、今後検討すべき課題であると考えている。

ポスター 10

妊婦の葉酸摂取量と食意識

黒川通典*¹⁾, 黒川浩美²⁾, 今井佐恵子¹⁾, 今木雅英¹⁾, 奥田豊子³⁾
(¹⁾ 大阪府立大学, ²⁾ 聖バルナバ病院, ³⁾ 帝塚山学院大学)

【目的】厚生省(現厚生労働省)は2000年に妊娠の可能性のある女性等について葉酸を1日に400 μ g摂取することを勧奨する通知を出した。われわれは今後の妊婦の食事指導に資することを目的に、妊婦の葉酸摂取状況や、葉酸に対する意識、栄養機能食品の利用状況等を把握するための調査を行った。

【方法】調査対象者は、2006年2月から5月までに産婦人科病院の外来受診者で、研究協力を承諾した45名のうち、調査を完了することができた33名であった。連続7日間の秤量法による食事記録調査を行い、併せて葉酸摂取の動機や行動となりうる質問項目への記入も依頼し、29名からの回答を得た。

【結果】葉酸摂取量400 μ g/日以上のは33名中11名であった。この11名を葉酸充足群とし、残りの22名を葉酸不足群とした栄養素等摂取量の比較では、エネルギー、脂質、コレステロール、食塩の摂取量には両群間に差を認めなかったが、葉酸充足群のビタミン、ミネラル、タンパク質の摂取量は有意に高値を示した。食品群別摂取量の比較で有意差がみられたのは緑黄色野菜で、葉酸不足群124gに対し、葉酸充足群では216gであった。意識に関する質問では「摂取量の過不足が気になる栄養素」で、もっとも多かったのは「エネルギー」で44.8%、次に「塩分」、「葉酸」、「カルシウム」で41.4%、その次に「鉄」で37.9%、最後に「脂肪」で27.6%となった。葉酸の摂取量が気になると答えた者(12名)の葉酸摂取量は $394 \pm 113 \mu\text{g}$ 、気にならないと答えた者(17名)の葉酸摂取量は $385 \pm 103 \mu\text{g}$ で有意差はなかった。葉酸のサプリメント服用者(9名)の食品からの葉酸摂取量は $384 \pm 120 \mu\text{g}$ 、服用しないと答えた者(20名)は $391 \pm 102 \mu\text{g}$ で有意差はなかった。「冷蔵庫で欠かさないように気をつけている食品」でもっとも多かったのは野菜で90%であった。

【考察】葉酸の摂取量と意識の間に関連が見いだせなかったことから、葉酸そのものを意識するだけでは食品からの摂取量を増加させるのは困難であると考えられた。また葉酸摂取量が400 μ g以上の葉酸充足群では脂肪エネルギー比が30%を下回っており、エネルギーバランスも良好な結果であったことも併せて考えると、妊婦の食事指導については葉酸等栄養素個々を意識するのではなく、緑黄色野菜を十分に摂取するなど、バランスのよい食事を心がけ、実践することが重要であると考えられた。

ポスター 11

妊娠期におけるビオチン摂取量および血清ビオチン量の変化

溝畑秀隆*¹⁾, 伊藤梨紗¹⁾, 渡邊敏明²⁾
(¹⁾ 神戸松蔭女子学院大学, ²⁾ 兵庫県立大学)

【目的】妊娠期および授乳期におけるビオチンは、近年、妊娠を維持し、胎児や乳児の成長を保つのに関与しているとの報告がある。また妊娠の経過に伴って血中や尿中のビオチンが低下することも示唆されている。日本人の食事摂取基準（2010年版）におけるビオチンの目安量は、成人で50 µg/日で妊婦付加量2 µg/日、授乳婦付加量5 µg/日である。しかし、どの程度付加すべきであるかというわが国での科学的エビデンスは十分ではない。そこで、妊娠から出産までの妊産婦を対象にビオチンの体内動態と付加量について検討した。

【対象者および実験方法】対象者は、神戸市内の産婦人科に通院している妊娠から出産までの妊産婦39名（初産婦15名、経産婦24名）であり、平均年齢は31.2±4.0歳である。また妊娠中の定期検診（妊娠初期・中期・末期）にあわせて食物摂取頻度調査（FFQ）を実施した。ビオチンの分析には定量用菌として、乳酸菌 *L. plantarum* ATCC 8014 を用いた。サンプルの前処理として、血清は50倍、尿は100・50倍に希釈した後、4.5 N 硫酸、4.5 N 水酸化ナトリウムを加えて、加水分解を行った。ビオチン定量用基礎培地を作成した後、マイクロプレートにサンプル100 µLと乳酸菌混和培地100 µLを入れ、37°C、18時間培養した後、吸光度610 nmを測定した。なお、尿中のビオチン量はクレアチニンで補正をした。またビオチンの摂取量は、2001年度国民栄養調査結果を利用した食品群別計算法で算出した。

【結果および考察】血清ビオチン濃度は、妊娠初期2.5 ng/mL、中期2.9 ng/mL、末期2.8 ng/mLおよび出産時2.3 ng/mLであった。妊娠初期と比べ、妊娠末期および出産時に有意な変化が認められた。尿中ビオチン濃度は、妊娠初期18.8 µg/mgCre、中期24.3 µg/mgCre、後期13.2 µg/mgCreおよび出産時14.6 µg/mgCreであった。妊娠初期と中期、妊娠中期と末期との間に有意差な差が認められた（ $p < 0.05$ ）。妊娠初期から中期にかけて上昇し、妊娠中期から末期にかけて低下がみられた。ビオチンの一日当たりの摂取量は、妊娠初期36.5 µg、中期34.8 µgおよび末期35.2 µgあった。妊娠期間中の平均は36.0±7.2 µg/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、ビオチンの付加量や妊娠前からの摂取量について考える必要がある。

ポスター 12

ヒジキに含まれるヒ素の挙動 —— 人工消化酵素の影響

片山（須川）洋子*^{1, 2)}, 片山眞之^{1, 2)}, 今西博子²⁾, 富田 圭²⁾
(¹⁾ 大阪青山大学健康学部健康栄養学科, ²⁾ 岐阜女子大学家政学部健康栄養学科)

【目的】食品としての乾燥ヒジキには、75°Cの熱水によっても可溶化しないヒ素が約10%存在する¹⁾。可溶化ヒ素のうち60%は無機体ヒ素であり40%が有機体ヒ素である²⁾。本研究は、乾燥ヒジキ中に存在するヒ素化合物が人工消化酵素処理によってどのように挙動するのかを知ることを目的とした。

【方法】乾燥ヒジキを人工消化酵素にて処理し、残渣と溶出液とに分画して各画分中のヒ素含有量を測定した。ペプシン処理、パンクレアチン処理、「ペプシン+パンクレアチン」処理を、乾燥ヒジキ水戻し処理の前後の試料について行った。ヒ素量は中性子放射化分析によって求めた。

【結果】ペプシン処理と比べて、パンクレアチン処理によってより多くのヒ素が可溶化された。水戻し後の試料ではペプシン処理による可溶化成分を検出できないのに対して、パンクレアチン処理では、なおヒ素の溶出が見られた。「ペプシン+パンクレアチン」処理によって、パンクレアチン単独処理の場合よりも多くのヒ素成分が可溶化されるが、なおも少量のヒ素成分が可溶化されない形態で残存していた。

【考察】ペプシンとパンクレアチンを共用した場合の可溶化率が、両酵素の単独処理によって得られた値の相加値になっていないことから、両酵素によるヒ素成分可溶化の機構が重複していることが推察される。乾燥ヒジキ中の熱水で可溶化されないヒ素成分は組織結合型であろうと推定される（前報(1)）が、これらはヒジキ摂食後、消化吸収されずに排泄されるのであろう。

【参考文献】(1) Katayama M, Sugawa-Katayama, Y (2007) Effect of temperature on the diminution of retained arsenic in dried Hijiki, *Sargassum fusiforme* (harvey) Setchell, by water-soaking., J. Home Econ. Jpn, 58, 75-80.

(2) Katayama M, Sugawa-Katayama Y, Yamaguchi Y, Murakami K, Hirata S (2008) Effect of temperature on the extraction of various arsenic compounds from dried Hijiki, *Sargassum fusiforme* by water-soaking as a pre-cooking process. Trace Nutrients Research 25: 134-138.

ポスター 13

セレン蓄積植物に存在する含セレンアミノ酸の LC-MS による同定

吉田宗弘*, 水谷泰輔

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室)

【目的】必須微量ミネラルであるセレンは、食品中において含セレンアミノ酸の形態で存在していることが多い。われわれは、すでにセレンを高濃度に蓄積させたカイワレダイコンスプラウトとニンニク中の Se-メチルセレノシステイン、およびセレン強化酵母酵素加水分解物中のセレノメチオニンを誘導体化し、GC-MS により同定したことを報告した。今回、セレン強化カイワレダイコン中の Se-メチルセレノシステイン、セレン強化ニンニク中の γ -グルタミル-Se-メチルセレノシステイン、セレン強化リョクトウスプラウト中のセレノホモランチオニンを LC-MS を用いて同定したので報告する。

【実験方法】セレン強化カイワレダイコンスプラウトとリョクトウスプラウトは既報に記載した方法で調製した。セレン強化ニンニクは植物セレンウム研究所から購入したものをを用いた。それぞれの凍結乾燥後のセレン含量 ($\mu\text{g/g}$) は以下のとおりである。強化カイワレダイコンスプラウト, 125 ; セレン強化リョクトウスプラウト, 45.6 ; セレン強化ニンニク, 85.2。各試料約 0.1 g に 0.1 M 塩酸 5 mL 加えて低分子セレン化合物を抽出し、抽出液をメンブランフィルター (0.45 μm) で濾過後、LC-MS (Applied Biosystems, API 3000) で分析した。強化カイワレダイコンスプラウトとセレン強化ニンニク抽出液の分析条件は、カラムが Cadenza CD-C18 (Imtakt), 移動相が水/アセトニトリル (70/30 (0分) ~ 10/90 (40分)), 流速が 0.2 mL/min, セレン強化リョクトウスプラウト抽出液の分析条件は、カラムが Inertsil ODS-3 (GL Sciences), 移動相が水/アセトニトリル (80/30 (0分) ~ 10/90 (45分)), 流速が 0.2 mL/min である。なお、セレノホモランチオニンは千葉大学薬学部衛生化学教室から供与されたものを使用し、 γ -グルタミル-Se-メチルセレノシステインは株式会社ベックスに合成を依頼した。

【結果と考察】セレン強化カイワレダイコンスプラウト、セレン強化ニンニク、およびセレン強化リョクトウスプラウトの抽出液を LC-MS 分析したところ、LC においては、それぞれ Se-メチルセレノシステイン、 γ -グルタミル-Se-メチルセレノシステイン、およびセレノホモランチオニンと保持時間を等しくするピークを検出した。これらのピークのマススペクトルはそれぞれの標準試料と一致しており、セレン強化カイワレダイコンに Se-メチルセレノシステイン、セレン強化ニンニクに γ -グルタミル-Se-メチルセレノシステイン、セレン強化リョクトウスプラウトにセレノホモランチオニンの存在することを LC-MS により証明できた。

ポスター 14

日本人高齢者における全血液中ミネラル栄養状態

近藤明子*¹⁾, 西牟田守²⁾, 宮崎秀夫³⁾, 花田信弘⁴⁾, 武田隆久¹⁾, 木村美恵子¹⁾

(¹⁾ 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, ²⁾ 千葉県立保健医療大学,

³⁾ 新潟大学大学院, ⁴⁾ 鶴見大学歯学部)

【目的】近年、生活習慣病・メタボリックシンドロームの増加に伴い、ミネラルやビタミンなど栄養素の潜在性欠乏・アンバランスによる健康への影響が指摘され、中高年の健康への警笛が危機感とともに聞こえる。そのような中、非常に良好な健康状態のもと元気に活躍している高齢者も多い。われわれは、“元気で長生き”，高齢者の健康の保持・増進を目的に、新潟市在住の高齢者（昭和 2 年生まれ、スタート時 70 歳）を対象として 1998 年から追跡調査を開始している。これまでに歯と全身の健康状態の関係を報告した。今回は微量栄養素のうち、非常にデータの少ないとくにミネラル栄養状態について調査、すなわち、これらの栄養状態評価として血中ミネラルを測定・検討した結果を報告する。

【方法】調査は 1998 年から 2008 年の 10 年間、新潟県新潟市で実施した（今回報告するデータは 2005 年度の血液である）。対象は、本調査に同意が得られた新潟市在住である昭和 2 年生まれの男性 157 名および女性 137 名とした。対象者の年齢は、2005 年当時 77 歳もしくは 78 歳であった。血液は採血後ただちに凍結保存した。血液をマイクロウェーブサンプル分解装置（パーキンエルマー社製）を用い、硝酸にて湿式灰化処理後、誘導結合プラズマ発光分光分析装置（パーキンエルマー社製）にて、ナトリウム (Na), カリウム (K), カルシウム (Ca), マグネシウム (Mg), リン (P), 硫黄 (S), 亜鉛 (Zn), 鉄 (Fe), 銅 (Cu) 濃度を測定した。

【結果および考察】調査対象者である高齢者の血液中ミネラル濃度を男女間で比較すると、血液中 Ca, Na 濃度は、女性が男性に比較し有意に高値を示し、Zn, Fe 濃度は女性が有意の低値を示した。また、本調査対象者と他の調査における 40 歳前後の中年男女における血液中ミネラル濃度を比較すると、ほとんどの元素において、男女とも今回測定した新潟市在住の高齢者で高値傾向を示した。ミネラル・微量元素の栄養状態を判断することは困難である場合が多いが、今回測定した血液中ミネラル・微量元素で男女差および年齢による差が認められたことは、生理的な性差に由来するのみならず、栄養状態をも反映している可能性が示唆された。今後、栄養摂取状況との関連について検討したい。

Klotho 遺伝子の発現からみた健康の保持・増進に関する検討

— カロリー制限による老化遺伝子 Klotho の発現亢進について —

宮崎 孝^{*1)}, 佐藤真喜子¹⁾, 井上 勉²⁾, 竹中恒夫²⁾, 永木由佳³⁾, 野寺 誠³⁾,
羽生真由子¹⁾, 大野洋一^{1, 2)}, 柴崎智美¹⁾, 鈴木洋通^{1, 2)}

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

わが国は、国際的にも例を見ないような高齢化が進んでいる。老年人口割合は 22.1%に達し（平成 20 年）、自治体によっては 40%を越える地域も存在する。こうした中で健康増進、さらには健康寿命の延伸を図るには食生活の見直しと改善も重要な課題となる。以前より、ラットを飼育するさいに摂取カロリーを大幅に制限することで寿命が伸びることが知られている。Klotho 遺伝子は老化に関与する遺伝子であるが、Klotho 遺伝子 KO マウスでは老化が急速に進むことが報告されている。一方、亜鉛欠乏では外的侵襲に対する抵抗力が低下するなど、老化現象との関連性が指摘されている。演者らは、前回報告で亜鉛欠乏ラットでは Klotho 遺伝子の発現が抑制されることを報告し、亜鉛欠乏を予防することの重要性を指摘した。今回はさらに生活習慣病の予防や治療に行われているカロリー制限が Klotho 遺伝子の発現にどのような影響を及ぼすのかを調べた。

【実験方法】体重 500 g～550 g の SD 系雄ラットを標準食で飼育した。飼料を自由に摂取させた群（フリー摂取群, F）とフリー摂取群における摂取量から 40%を減じた量で飼育した群（calorie restriction, CR 群）の 2 群に分けた。飲み水は自由摂取とした。両群とも個別ケージで 1 週間馴化してから 4 週間飼育した。ラットはエーテル麻酔下で還流した後、摘出した腎臓を試料とした。Klotho 遺伝子の発現は real-time PCR 法により、また Klotho タンパクの発現は SDS-PAGE 法により行った。

【結果と考察】F 群の体重は実験開始前が 511.4 ± 13.7 g であり、4 週の飼育間後には 556.0 ± 15.5 g となった。一方、F 群の 60% 摂取カロリーで飼育した CR 群では 529.3 ± 17.2 g から 470.3 ± 9.8 g に低下した。Real-time PCR 法による Klotho m-RNA の発現量は F 群に比較して CR 群では約 1.5 倍に増加した。また、SDS-PAGE による Klotho タンパクにおいても F 群に比して CR 群では明確な増加が確認された。

カロリー制限は生活習慣病の予防や寿命にも重要な要素となることが知られている。本実験結果から、Klotho の遺伝子発現の観点からもカロリー制限の有用性が支持できることが示された。今後、カロリー制限に対する亜鉛摂取の相乗効果についても調べ、地域保健分野においてもより有用な栄養の概念について検討する予定である。