

New Food Industry

New food indust. 68 (8): 2026.

原著

- ◆ 必須栄養素プロテオミクスでコーヒーの健康効果を解析



原著

- ◆ 乳糖果糖オリゴ糖摂取による肌のバリア機能評価試験:
ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

解説

- ◆ ピロロキノリンキノン (PQQ) およびイミダゾピロロキノリン (IPQ) の抗老化作用 (1)
— 成長, 寿命, 外観老化および筋機能に対する影響 —

解説

- ◆ $VO_2\max$ を主要アウトカムとした臨床試験は成立するか?

解説

- ◆ 論文作成支援講座
機能性表示食品の届出を見据えた論文執筆 ~Part 3~

Research Commentary Article

- ◆ Standardized Cordyceps sinensis Extract Attenuates LPS-Induced Acute Lung Injury and Enhances Antiviral T-Cell Responses in Influenza A (H1N1)-Infected Mice

連 載

- ◆ マルラ (MARULA)

連 載 乳および乳製品の素晴らしさ 第32回

- ◆ 「精密発酵」で工場生産される未来の乳・乳製品 (その 1)

New Food Industry Editorial Board

■ボードメンバー敬称略(五十音順)

大石 隆介	Ryusuke Oishi	明海大学 経済学部 大学院経済学研究科 教授
岡 希太郎	Kitaro Oka	東京薬科大学 名誉教授
具 然和	Yeunhwa Gu	純真学園大学 保健医療学部放射線技術科学科 教授
古賀 邦正	Kunimasa Koga	(一財)自然環境研究センター 客員上級研究員(非常勤)
齋藤 忠夫	Tadao Saito	東北大学 大学院農学研究科 名誉教授
坂上 宏	Hiroshi Sakagami	明海大学 歯科医学総合研究所(M-RIO) 教授
史 海霞	Haixia Shi	上海交通大学 医学院第九人民医院 医師
白瀧 義明	Yoshiaki Shirataki	城西大学 薬学部生薬学講座 名誉教授
須見 洋行	Hiroyuki Sumi	倉敷芸術科学大学生命科学部 名誉教授
瀬口 正晴	Masaharu Seguchi	神戸女子大学 名誉教授, 日本穀物科学研究会会長
早田 邦康	Kuniyasu Soda	医療法人財団 聖蹟会 埼玉県央病院 院長
津田 孝範	Takanori Tsuda	中部大学 応用生物学部食品栄養科学科 教授
友村 美根子	Mineko Tomomura	明海大学 保健医療学部 教授 城西大学, 薬学部, 客員研究員
日比野 康英	Yauhide Hibino	城西大学大学院 薬学研究科 教授
豊崎 俊幸	Toyosaki Toshiyuki	香蘭女子短期大学 食物栄養学科 教授
牧 純	Jun Maki	千葉県立大学保健医療大学 「国際保健(国際上の健康課題)」
増田 宜子	Yoshiko Masuda	松本歯科大学 歯科保存学講座 教授
松郷 誠一	Seiichi Matsugo	新潟薬科大学 応用生命科学部 客員教授
宮尾 茂雄	Shigeo Miyao	東京家政大学 大学院教授, 四川大学客員教授 (一社)全国漬物検査協会 会長, 全日本漬物協同組合連合会 常任顧問
山口 正義	Masayoshi Yamaguchi	Professor (Researcher), University of Hawai'i Cancer Center, University of Hawai'i at Mānoa
山田 正子	Masako Yamada	共立女子大学 家政学部 食物栄養学科 教授
肖 黎	Li Xiao	日本歯科大学 生命歯学部薬理学講座 准教授
渡部 保夫	Yasuo Watanabe	愛媛大学 大学院農学研究科生命機能学専攻 名誉教授

原 著

必須栄養素プロテオミクスでコーヒーの健康効果を解析

Analyzing the health benefits of coffee using Essential Nutriproteomics

岡 希太郎 565

原 著

乳糖果糖オリゴ糖摂取による肌のバリア機能評価試験：

ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

Effect of Lactosucrose Supplementation on Skin Barrier Function:

A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Parallel-Group Comparison Study

藤田 孝輝, 鈴木 直子, 和泉 達也 572

解 説

ピロロキノリンキノン (PQQ) およびイミダゾピロロキノリン (IPQ) の抗老化作用 (1)

—成長, 寿命, 外観老化および筋機能に対する影響—

Anti-aging effects of pyrroloquinoline quinone (PQQ) and imidazopyrroloquinoline (IPQ) (1)

—Implications for growth, lifespan, appearance aging, and muscle function—

大寺 恵子, 田中 ゆか, 池本 一人, 玉腰 優典, 高橋 良哉 583

解 説

VO₂max を主要アウトカムとした臨床試験は成立するか？

Is a clinical trial with VO₂max as the primary outcome feasible?

馬場 亜沙美, 鈴木 直子, 田中 瑞穂, 山本 和雄 590

解 説

論文作成支援講座

機能性表示食品の届出を見据えた論文執筆 ~Part 3~

From Clinical Evidence to Functional Claims

Strategic Scientific Writing for Foods with Function Claims Notification ~Part 3~

馬場 亜沙美, 鈴木 直子, 田中 瑞穂, 山本 和雄 595

Research Commentary Article

Standardized Cordyceps sinensis Extract Attenuates LPS-Induced Acute Lung Injury and Enhances Antiviral T-Cell Responses in Influenza A (H1N1)-Infected Mice

Yeunhwa Gu, Takenori Yamashita and Tota Inoue 600

連載

マルラ (MARULA)

瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 611

連載 乳および乳製品の素晴らしさ 第 32 回

「精密発酵」で工場生産される未来の乳・乳製品 (その 1)

齋藤 忠夫 621

必須栄養素プロテオミクスでコーヒーの健康効果を解析

岡 希太郎 (OKA Kitaro)

Key Words : 必須栄養素, 機能性タンパク質, コーヒー, 補酵素, 捕因子

Analyzing the health benefits of coffee using Essential Nutriproteomics

Corresponding author: Kitaro Oka

[Emeritus Professor of Tokyo University of Pharmacy and Lifescience]

Abstract

Coffee, a beverage consumed worldwide, has been the subject of numerous studies demonstrating various health benefits for daily drinkers. However, for coffee to contribute to the prevention of age-related diseases, there must be a mechanistic link between its chemical components and the functional proteins involved in these conditions. Recently, Kuang et al. reported that coffee consumption alters the blood levels of dozens of proteins. In this study, to better understand the relationship between essential nutrients in foods and functional proteins, we apply a new nutritional concept, Essential Nutriproteomics, to coffee and propose its importance for elucidating the connections between diet and disease.

Key Words : essential nutrients, functional proteins, coffee, coenzymes, cofactors

1. はじめに

世界的に広く飲まれているコーヒーは、毎日続けて飲んでいる人に、多くの健康効果をもたらすとの論文が数多く発表されている。しかし、これまでのデータのほとんどは観察（疫学）研究で、介入（実験）研究はほとんどない。そのため、コーヒーが健康増進/病気予防に寄与する薬理学/生理学的メカニズムは明確ではない。コーヒー飲用が代謝性疾患、心血管疾患、免疫学的、腫瘍学的および神経学的疾患の予防に関わるには、コーヒーの化学成分と、疾患の発症を仲介する機能性タンパク質との連携が無ければ成立しない¹⁾。この Kuang らの論文によれば、コーヒーを飲むと数十種類のタンパク質の

血中濃度が変動し、その現象がコーヒーの疾患予防効果と関係しているはずだと述べている。これと同様の考え方は、コーヒーに限らずその他多くの食品についても成立するはずである。本研究では、食品に含まれている必須栄養素と機能性タンパク質との関係を理解するために、「必須栄養素プロテオミクス (Essential Nutriproteomics)」という新たな栄養学の概念を、コーヒーについて検証して、その重要性を提案する。

機能性タンパク質とは、酵素、受容体、チャネルなど、生体の主要な生理機能を担うタンパク質のことで、ヒトでは最大 10,000 種類、そのうち酵素タンパク質は約 4,000 と考えられている²⁾。本論文で

* 責任著者: 岡 希太郎 (Kitaro Oka) (東京薬科大学 薬学部 名誉教授)

はこれらを総称して“機能性タンパク質”と呼ぶ。これらのタンパク質の多くは、固有の機能を発揮するためにビタミンやミネラルなどの必須栄養素を補酵素 (coenzyme) / 補因子 (cofactor) として結合しなければ、生理機能を発揮することはない。従って、俗にいう必須栄養素の欠乏症とは、機能性タンパク質が要求する補酵素 / 補因子の欠乏によって、機能性タンパク質が本来の機能を発揮しないために生じる病態と言える。本論文では第一に、個々の必須栄養素が補酵素 / 補因子として結合する機能性タンパク質の種類と数を体系的に調査する。第二に、補酵素 / 補因子として結合するタンパク質数が多い栄養素ほど、欠乏症の症状が多様化することに注目して、必須栄養素プロテオミクスの栄養学的意義について考察する。

2. 方法

機能性タンパク質がその生理学的な働きを制御して恒常性を保つためには、必須栄養素と 1:1 の関係で結合する必要がある。必須栄養素の種類が 40 に対して、機能性タンパク質は 10,000 種類を超えるので、計算上は 1 つの必須栄養素に平均 250 の機能性タンパク質が結合しても不思議はない。タンパク質と必須栄養素の結合部位には構造的な特異性があるので、1 つの必須栄養素が 250 を超える機能性タンパク質と結合したり (非選択的)、逆にたった 1 つの機能性タンパク質にしか結合しない (選択的) のものもあるだろう。逆に、1 つの機能性タンパク質に複数の栄養素が競合して結合する例は極めて稀である。大事なことは、1 つの必須栄養素が複数の機能性タンパク質と結合することで、その組み合わせの数に応じて多くの生理機能を発現するという点である。結合する機能性タンパク質の数が多いほど、その必須栄養素の欠乏症には、タンパク質の数に応じた多様な生理作用の欠如が見られることになる。ここでは、結合する機能性タンパク質の数が多い必須栄養素ほど、健康にとって重要度が高いと考えることにする。

前世紀から機能性タンパク質に注目して、研究用のリソースが構築されてきている。代表的なリソースは KEGG³⁾、BRENDA⁴⁾ および UniProt⁵⁾ と呼ばれるもので、KEGG は 1995 年に京都大学の遺伝子ゲノム百科事典として、BRENDA は 1987 年に

ドイツ・ヘルムホルツ感染研究センターでタンパク質情報の集積のために構築された。KEGG の特徴は、遺伝子やタンパク質 (ゲノム情報) と化合物などの情報を、分子間の配線図である相互作用・反応ネットワークとして表現していることである。また、BRENDA は、酵素に関する世界最大級の情報データベースで、7000 種類を超える酵素について、触媒する化学反応の反応速度に関する詳細データを提供し、酵素反応速度論の研究に貢献している。また UniProt はタンパク質データベースの代表的な存在で、初心者が簡単に目的のタンパク質データ (構造と機能など) にアクセスできる特徴がある。簡潔に言えば、「このタンパク質は何者で、どんな働きをして、どこにあって、どんな構造で、どんな文献があるか」を一括して調べられるデータベースである。しかし、必須栄養素と機能性タンパク質の関係をまとめたデータはどこにもない。

そこで筆者は、これら 3 つのデータベースを中心に、PubMed 等の生命科学論文データベースを併用して、必須栄養素と機能性タンパク質の組み合わせについて情報収集し、個々の必須栄養素が結合する機能性タンパク質の数をデータ化した論文を探してみた。しかし、この作業は想像を超える労力を要する割に、得られた数字の信頼性に確信が持てないことに気づいた。主な理由は、必須栄養素と機能性タンパク質の対応数が機能性タンパク質の数に比べて少な過ぎるのである。そこで、調査対象の機能性タンパク質を代謝酵素に限定して、筆者が日常使っているノート型パソコン (Dell Windows11) に搭載されている AI/Copilot との共同作業を行うことにした。

3. ビタミンと酵素タンパク質の組み合わせ

現在のウェブ検索では「必須栄養素ごとに、それが結合する酵素タンパク質数を比較した一覧表」は見つからない。Copilot から同様の回答が返ってきた。検索結果は、「ビタミンは多くの酵素の補酵素になる」、「多くの酵素がビタミン由来の補酵素を必要とする」、「必須栄養素のミネラルとアミノ酸が酵素タンパク質を活性化することは極めて稀である」といった一般論のみで、ビタミンごとの酵素数を示すデータは見つからない。そこで、文献ベースの一般論として、現状で分かっていることをまとめてみた。すると、ビタミン B₃ であるナイアシン (NA)

表 1 生化学知識に基づくビタミン / 補酵素に結合する酵素タンパク質の数

順位	ビタミン	補酵素	酵素タンパク質数	役割
1	ナイアシン	NAD/NADP	> 500	酸化還元反応
2	パントテン酸	CoA	200~300	アシル基転移
3	ピリドキサル	PLP	100~150	アミノ基転移
4	リボフラビン	FMN/FAD	90~100	酸化還元反応
5	葉酸	THF	20~30	1 炭素代謝
以下省略				

表 2 ヒトにおけるビタミン / 補酵素に結合する酵素タンパク質の数

順位	ビタミン	補酵素	酵素タンパク質数	役割
1	ナイアシン	NAD/NADP	400~500	酸化還元反応
2	リボフラビン	FAD/FMN	150~200	酸化還元反応
3	ピリドキサル	PLP	140~160	アミノ基転移
4	パントテン酸	CoA	100~120	アシル基転移
5	ビオチン	ビオチン	5	カルボキシラーゼ
以下省略				

からできるニコチナミドアデニンジヌクレオチド (NAD) とそのリン酸エステル (NADP) が補酵素となって結合する酵素の数が 500 を超えること、またその数が、他のビタミンに比べて圧倒的に多いことが示唆された。

表 1 は、一般的な生化学知識に基づく論文調査で得た「結合する酵素タンパク質の数が多いビタミン / 補酵素のトップ 5」である。しかし、この表のデータには定量性が欠けているので、検索方法に KEGG/BRENDA/UniProt を加えてみることにした。しかし、筆者はこれらのデータベースへ侵入できないので、Copilot に調査目的を伝えて支援してもらうことにした。Copilot へは次のように質問した。

●質問：「ヒトの場合に限って、KEGG/BRENDA/UniProt を用いて、ビタミンと結合する酵素タンパク質の数を調べて、結合する酵素タンパク質が多い順に上位 5 番までのビタミン / 補酵素を教えてください」。

次に、Copilot からの回答を示す。

●回答：結論から言うと、私は KEGG や BRENDA のデータベースに直接アクセスしてクエリ (質問) を実行することはできません。ただし、KEGG や BRENDA の酵素分類を、一般的な論文検索の結果

(表 1 のようなデータ) と合わせて整理すれば、より信頼できる推定値を作ることができるので、その結果を表 2 に示します。

表 2 の順位 1 はビタミン B₃ のナイアシン (NA) で、ヒトの体内で NAD や NADP に変化して、それぞれが酸化還元酵素の補酵素となる。その酸化還元酵素の数は少なくとも 400、多くて 500 に達すると考えられる^{6,7)}。同じく順位 2 はビタミン B₂ のリボフラビンで、ヒトの体内で FAD や FMN に変換されて、これらが酸化還元酵素の補酵素として働く。この場合の酸化還元酵素の数は 150~200 という多数であるが、NA には及ばない⁸⁾。同じく順位 3 はビタミン B₆ のピリドキサルで、補酵素となるのはリン酸化されたピリドキサルリン酸 (PLP) で、タンパク質やアミノ酸代謝酵素に結合して、アミノ基転移酵素として 140-160 種類がある⁹⁾。同じく順位 4 はビタミン B 群のパントテン酸で、補酵素 A (CoA) として、アシル基転移酵素を活性化し、脂肪酸の β 酸化、TCA サイクル、脂肪酸合成、アミノ酸代謝など広範囲のアシル基転移酵素に結合する。その数は 100-120 と推定されている¹⁰⁾。最後に順位 5 はビオチンで、多数あるカルボキシル基転移酵素のうち、僅かに 5 つの酵素にのみ補酵素として働くが、それら 5 つの生理学上の重要度は高いとされている¹¹⁾。ここで注目すべきは、表 1 と 2 のビタミンの全て

がB群に属していることである。代謝機能へのB群の寄与は一般的知識として定着しているが、結合する酵素タンパク質の数に注目した分類を活用すれば、より鮮明で正確な必須栄養素プロテオミクスが実現できると考えられる。

4. 老化とナイアシンとナイアシンアミド

ここでニコチン酸 (NA) とニコチン酸アミド (NAM) が混同されるという長年の誤解を解消しておく。先ず B₃ の歴史を振り返ると、煙草に含まれている油状物質ニコチンの構造解析が難航する中、どろどろの油状物質であるニコチンを強力な酸化剤で処理すると、酸性物質に変わって白色の針状結晶になることが分かった。これがきっかけでニコチンの化学構造が解明されて、針状結晶はニコチン酸 (NA) と命名された。NA にはニコチンのような毒性はない。それどころか後にペラグラを治療するビタミン B₃ が NA であることが発見された。間もなく第二次世界大戦の食糧不足の最中に、NA は小麦粉の栄養強化に使われたが、名称が禍して不買運動につながった。いわゆる風評被害と言える事件だった。そこで WHO はニコチンからできる無害な酸性物質という意味で、**nicotinic acid** の語尾にアルカロイドを意味する **in** を加えて、**niacin** (ナイアシン) に改名した。NA の誘導体であるニコチン酸アミド (NAM) は等価なビタミン B₃ と見做されてナイアシンアミド (同じく NAM) になったのだが、ビタミンとして等価であるなら、名前はナイアシンに統一すればよいとの世俗の意見が大勢を占めて現在もまかり通っている。これが誤解の始まりとなった。

2002 年になって、NA にはビタミン作用以外に受容体 GPR109A が発見された¹²⁾。この受容体はビタミン量の 50~100 倍で活性化して、脂質代謝を改善する。前世紀から高脂血症薬として欧州を中心に使われていた NA の誘導体アシピモックスが GPR109A を作用点とすることも明らかになった。NAM にこの作用はない。結局、NA と NAM は生理学的 / 薬理的に名実ともに別物となったのである。さらに加えて、2003 年に赤ワインの成分レスベラトロールが長寿化合物として発見された¹³⁾。論文による

と、レスベラトロールは、既に知られていた長寿酵素 Sirt1 を活性化する小分子で、NAD の医学研究を新たなステージに押し上げることとなった。Sirt1 は NAD を消費 (加水分解) しながら自らは活性化する。NAD は分解されて NAM になる (図 1 を参照 : Sirt1 は省略してあるが、CD38 と同じ位置にある)。NAM はサルベージ回路の構成分子で、酵素 NAMPT によって NMN となり、さらに NAD を再生する。この NAD 再合成経路は、トリプトファン (Trp) や NA から新たに NAD を作る経路 (デ・ノボ経路 / プレイス・ハンドラー経路) よりずっと効率なので、若い健康な人は NAD の大半をこのサルベージ回路で合成している。ところが、加齢に伴って老化が進行すると、サルベージ回路が機能を失う原因が 2 つ発生する。図 1 に示すように、1 つは NAD を過剰に消費する CD38 が増えることと、もう 1 つは NAM を NMN に変える酵素 NAMPT の減少である¹⁴⁾。

CD38 と NAMPT 酵素の老化現象は、結果として NAM の過剰な蓄積につながる (図 1 を参照)。蓄積した NAM を細胞外に排除するように、メチル化酵素 NNMT が働いて NAM のメチル化が進行するのだが、このときメチオニンサイクルの SAM がメチル基供与体となって、大量のメチル基を消費する。さらに、メチオニンサイクルは葉酸サイクルとカップリングして、新たなメチル基の供給に備えるのだが、実はそれが容易でない。そして結局、メチル基不足が進行すると、遺伝子のメチル化など生命にとって重要なメチル化反応の進行が妨げられることになって、種々の加齢疾患が起こってくる (図 1

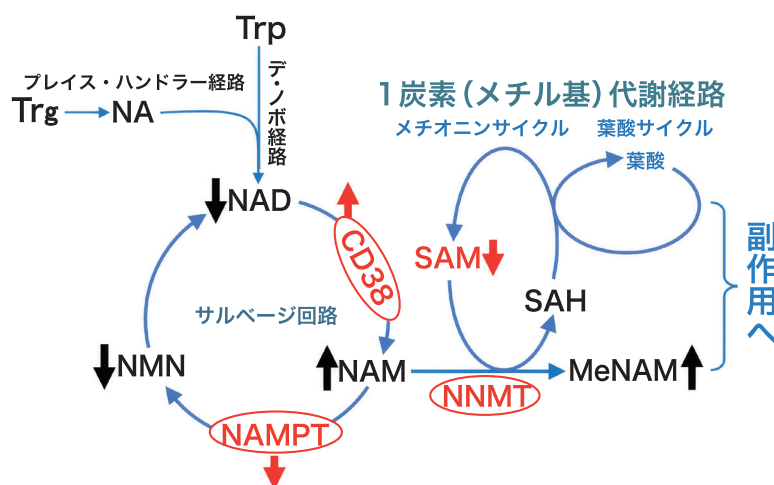


図1 高齢者のNADサルベージ回路に生じるリスク

表3 ミネラルが捕因子として結合するヒト酵素タンパク質の数

順位	ミネラル (捕因子)	酵素タンパク質数	役割
1	亜鉛 (Zn^{2+})	≥ 300	酸化還元反応
2	マグネシウム (Mg^{2+})	≥ 300	酸化還元反応
3	鉄 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$)	150~200	アミノ酸代謝
4	マンガン (Mn^{2+})	10~20	カルボキシラーゼ
5	銅 ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$)	10~12	カルボキシラーゼ
以下省略			

では副作用としてある)。

以上に書いたように、2つのB₃ (NA と NAM) は生理学的に決して等価な関係ではなく、全く異なる代謝系の位置づけになっている。そこで、老化による疾患の背景にはNAD 不足が潜んでいて、それが原因のエネルギー代謝障害が、治療を困難にしている例も指摘され始めた。では、どうすればNAD を補給できるかを考えてみると、サルベージ回路を経由しない合成経路を使う方法が理にかなっているように思える。ビタミンとしてのNA をビタミン用量で補給する限りは、受容体 GPR109A を刺激することはないので、過剰なNA による副作用は起こらない。つまり高齢者のNAD 補給に役立つB3 は現在一般に使われているNAM ではなく、デ・ノボ経路に合流するNA なのである。実際に老人特有の疾患であるサルコペニアの骨格筋減少や筋力低下は、NA 前駆体であるトリゴネリンの投与によってNA を経由して改善することが発表されている¹⁵⁾。

5. ミネラルと酵素タンパク質の組み合わせ

前項と同じ方法で、必須栄養素であるミネラルと酵素タンパク質の関係を調査した。Copilot への質問は、「個々の必須ミネラルが結合する酵素タンパク質の数を数えて、上位5つを順に並べること」とした。Copilot の回答は、「水溶性ビタミンと違い、ミネラルは“金属補因子 (metallocofactor)”として酵素に直接結合するため、酵素数のランキングが比較的明確なので、信頼できる生化学レビュー (特に Annual Review of Biochemistry, Nature Reviews Molecular Cell Biology, Metallomics など) から統合して提示します」。表3 は、Copilot が提示した「ヒトの必須ミネラルが“補因子として結合する酵素タンパク質”の数を多い順に5つ並べたデータ」である。

表3 の順位1 は亜鉛 (Zn^{2+}) とマグネシウム (Mg^{2+}) が同数だった。 Zn^{2+} が結合する酵素は300 以上あるが、 Zn^{2+} は酵素以外の機能性タンパク質にも結合して、捕因子としての機能を果たしている。例えば転写因子について見れば、その数は2,000 にも達している (詳細は省略)。 Zn^{2+} が結合する酵素タンパク質の特徴は、いわゆるメタロ酵素の中でも最大数に達している^{16,17)}。同じく順位1 の Mg^{2+} は、 Zn^{2+} と等しい300 種類以上の結合酵素をもっている。その最大の特徴は、高エネルギー分子であるATP を利用するすべての代謝酵素が Mg^{2+} を要求する。理由は、ATP 分子の安定化のために Mg^{2+} が必要だからである。300 種類の中には、DNA ポリメラーゼ、RNA ポリメラーゼ、キナーゼ、ホスファターゼなどがあり、 Mg^{2+} は代謝酵素の中心的な金属と言える^{18,19)}。

第3位は鉄 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) である。鉄イオンが結合する酵素数は150–200 種類で、ヘム酵素 (シトクロム、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ)、非ヘム鉄酵素 (ジオキシゲナーゼ、ヒドロキシラーゼ) など、解毒を中心とする代謝酵素の中心的役割を担っている^{20,21)}。そして第4位はマンガン (Mn^{2+}) で、結合酵素数は10–20 種類の少数である。 Mn^{2+} 結合酵素の役割はカルボキシラーゼとしての働きで、糖新生や尿素回路の回転に役立っている。NA との関係で特筆すべき役割は、ミトコンドリアでの抗酸化性である²²⁾。ミトコンドリアで産生する大量の活性酸素を中和するために、ミトコンドリアはスーパーオキシドディスムターゼ2 (SOD2) を作って対応するのだが、そのSOD2 にとって Mn^{2+} は必須の捕因子になっている。最後に第5位は銅 ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$) で、結合酵素数は10–12 種類である²³⁾。中でも、チトクロムc オキシダーゼとスーパーオキシドディスムターゼ1 (SOD1)、ドーパミンβ-ヒドロキシラーゼは注目に値する酵素である²⁴⁾。

6. 考察

栄養素の摂取量と死亡リスクの関係または罹患リスクの関係が系統的に調べられた例はない²⁵⁾。表2に見られるように、ビタミンは補酵素として酵素に結合し、その酵素の働きを最大化する役割を果たしている。また表3で、ミネラルは捕因子として酵素に結合し、その酵素の働きを最大限に発揮させる。つまり、ビタミンもミネラルもそれだけでは栄養学的な意味を持たないが、酵素タンパク質と結合することで、必須栄養素としての役割を果たすのである。ここで大事なことは、個々のビタミンとミネラルを1つ1つ見てみると、それを結合して生理機能を発揮する酵素の数が大きく異なっていることである。

表2のなかで順位1位のNAを含む食品を摂ると、体内でNADとNADPの2つの補酵素に変わる。そしてこれらの補酵素が最大500種類もの酸化還元酵素に結合して、三大栄養素からエネルギーを生み出す反応に寄与している。三大栄養素は身体を作る材料である他に、体温を維持して神経と筋肉に活動エネルギーを与える。ヒトが1日に必要とする熱量をカロリーで表わせば、おおよそ1,500~2,000で、その大部分の産生にNADとNADPが係わっている。NAからできる補酵素が最大500もの代謝酵素に結合するという事実は驚きではあるが当然でもあろう。

次に、表3で1位にランキングされたMg²⁺は、最大300種類の酵素タンパク質に結合する。その酵素タンパク質の多くがATP分子を利用する酵素で、そのATPにMg²⁺が結合して、酵素反応の速やかな進行を可能にしている。つまり、表2で1位のNAと表3で1位のMg²⁺は、NADまたはNADPの補酵素となって、ATPを活用しながら進行する代謝反応の全てに関与し、最大300の酵素タンパク質を活性化するのである。以上をまとめると、NAとMg²⁺の組み合わせこそが、ヒトの代謝酵素の恒常性を維持するうえで、最も重要な必須栄養素であり、これを言い替えば、この2つが欠乏したときの影響は他の栄養素の欠乏に比べて極めて大きいということでもある。

NAとMg²⁺を同時に多く含む食品を探してみた。注意した点は、各種の食品栄養成分表に「NA」と表示してあっても、よく調べてみると「NAとNAMが共存している」ことが多い。文科省の食品

成分データベース (<https://fooddb.mext.go.jp/>) でも、表示されている成分B₃はナイアシンと書かれているだけで、ナイアシンアミドとは書かれていない。しかし実際には、豚肉にはNAよりもNAMが多く含まれている。NAMを含まずにNAだけを含む食品を探してみた。するとその数は非常に少ないことがわかる。具体的には、100gあたり最も多く含む食品は焙煎したコーヒー豆、ついで大粒のピーナッツ、そして最近市場にも出ているヒラタケなどが、NAMを含まずにNAだけを含む食品である。コーヒーを飲まない人にとって、もしNAを摂る必要が生じたときは、食品に頼らずビタミン剤を服用することがよりよい方法なのだが、残念なことに現在の日本にNAの医薬品は存在していない。

次に、これらの食品について、Mg²⁺の含量を調べてみた。すると食品100g中の量として、コーヒー豆には199mg²⁶⁾、大粒ピーナッツには170mg (<https://fooddb.mext.go.jp/>)、ヒラタケには15mg (同)であった。従って、NAMを含まずに、NAとMg²⁺を最も多く含む食品はコーヒー豆ということになる。ところで、コーヒーの生豆にはNAがほとんど含まれていない。その代わりに、トリゴネリンが多く含まれているので、これが体内で脱メチル化されればNAに変化するはずなのである。実際に古い論文によれば、この変化が動物実験で観察されているのだが、ヒトの場合には確かめられていなかった。この代謝反応がヒトで初めて検証されたのは2024年になってのことである²⁷⁾。コーヒー生豆に多く含まれているトリゴネリンが、ヒト体内でニコチン酸に変化して、さらにNADになることで、加齢性疾患の治療に成功する例が報告され始めている^{27,28)}。従ってコーヒーは、焙煎してもしなくても、1杯でNA^{29,30)}とMg²⁶⁾の相当量を同時に摂取できて、かつNAMを含まない唯一の食品なのである。

7. 結論

コーヒーを素材にした必須栄養素プロテオミクスは、コーヒーが若者にも高齢者にとっても、副作用なしに補酵素NADを増やすことができる唯一の飲み物であることを明らかにした。NADの欠乏はミトコンドリアのATP産生を大幅に低下させるので、細胞機能が破綻するリスクが高まる。さらに、ATPを利用するほぼ全ての代謝酵素が捕因子Mg²⁺を必

要としている。NAD と Mg^{2+} はミトコンドリアおよび細胞が生きるために欠かせないほぼ全ての代謝酵素の捕因子となっている必須栄養素である。NAD の前駆体としての NA は加齢による NAM の蓄積を最小限に抑えるビタミンであるが、NAM を含まずに NA を単独で含み、かつ誰でも好みに応じて摂ることのできる食品は極めて稀であり、コーヒーを除くことはできない。しかし、コーヒー生豆に含まれ

ているトリゴネリンが体内で NA に変化することは動物実験で示唆されていたが、実際にその変化を確認されたのは 2024 年になってからのことなので、トリゴネリンが加齢性疾患の治療に使われるには、更なる研究が必要である。以上によって、コーヒーは健康的な食生活の一部として位置づけられるべき貴重な飲み物である。

参考文献

1. Kuang A, Erlund I, Herder C, *et al.*: Targeted proteomic response to coffee consumption. *Eur J Nutr* **59**:1529-1539, 2020.
2. Aebersold R, Agar JN, Amster IJ, *et al.*: How many human proteoforms are there? *Nat Chem Biol*. **14**:206-214, 2018.
3. KEGG: <https://www.kegg.jp/ja/>
4. BRENDA : <https://www.brenda-enzymes.org/>
5. UniProt: <https://www.uniprot.org/>
6. Ying W, *et al.*: NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal*. **10**: 179-206, 2008.
7. Pollak N, Niere M, Ziegler M, *et al.*: NAD kinase levels control the NADPH concentration in human cells. *J Biol Chem*. **282**:33562-33571, 2007.
8. Lienhart W-D, Gudipati V, Macheroux P: The human flavoproteome. *Arch Biochem Biophys*. **535**:150-162, 2013.
9. Percudani R and Peracchi A: A genomic overview of pyridoxal-phosphate-dependent enzymes. *EMBO Rep*. **4**:850-854, 2003.
10. Leonardi R, Zhang Y-M, Rock CO, *et al.*: Coenzyme A: back in action. *Prog Lipid Res*. **44**:125-153, 2005.
11. Zemleni J, Hassan YI, Wijeratne SS: Biotin and biotinidase deficiency. *Expert Rev Endocrinol Metab*. **3**:715-724, 2008.
12. Soga T, Kamohara M, Takasaki J, *et al.*: Molecular identification of nicotinic acid receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. **303**:364-369, 2003.
13. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, *et al.*: Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. **425**:191-196. 2003.
14. Strömmland Ø, Diab J, Ferrario E, *et al.*: The balance between NAD biosynthesis and consumption in ageing. *Mech Ageing Dev*. **199**:111569, 2021.
15. Membrez M, Migliavacca E, Christen S, *et al.*: Trigonelline is an NAD precursor that improves muscle function during ageing and is reduced in human sarcopenia. *Nat Metab*. **6**:433-447, 2024.
16. Andreini C, Banci L, Bertini I, *et al.*: Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. *J Proteome Res*. 2006 Jan;**5**(1):196-201.
17. Krężel A, Maret W: The biological inorganic chemistry of zinc ions. *Arch Biochem Biophys*. Dec 1;**611**:3-19. 2016.
18. Sreedhara A, Cowan JA: Structural and catalytic roles for divalent magnesium in nucleic acid biochemistry. *Biometals*. Sep;**15**(3):211-223. 2002.
19. Romani AMP: Magnesium in health and disease. *Met Ions Life Sci*. **13**:49-79. 2013.
20. Andreini C, Putignano V, Rosato A, *et al.*: The human iron-proteome. *Metallomics*. Sep 19;**10**:1223-1231. 2018.
21. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, *et al.*: Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*. Jul 9;**142**:24-38. 2010.
22. Dasgupta M, Graham ML, Borgstahl GEO. The curious life of human mitochondrial SOD2. *Int J Biol Macromol* **337**(Pt 2):149592, 2026.
23. Kim B-E, Nevitt T, Thiele DJ: Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol*. 2008 Mar; **4**(3):176-85.
24. Shim D, Han J. Coordination chemistry of mitochondrial copper metalloenzymes: exploring implications for copper dyshomeostasis in cell death. *BMB Rep* **56**:575-83, 2023.
25. Wang Y, Wang J, Li Q, *et al.*: A nutrient-wide analysis of the associations of dietary nutrients with all-cause and disease-specific mortality. *BMC Public Health*. May 4. Online ahead of print. 2026.
26. Adler G, Nędzarek A, Tórz A: Concentrations of Selected Metals (NA, K, CA, MG, FE, CU, ZN, AL, NI, PB, CD) in Coffee. *Zdr Varst*. **58**:187-193, 2019.
27. Membrez M, Migliavacca E, Christen S, *et al.*: Trigonelline is an NAD⁺ precursor that improves muscle function during ageing and is reduced in human sarcopenia. *Nat Metab*. **6**:433-447, 2024.
28. Lv W, Cao D, Yang F: Trigonelline attenuated sepsis-induced acute kidney injury by activating NAD⁺/SIRT1 Pathway. *Physiol Res*. **74**:439-447, 2025.

乳糖果糖オリゴ糖摂取による肌のバリア機能評価試験： ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

藤田 孝輝 (FUJITA Koki)^{1*}, 鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)², 和泉 達也 (IZUMI Tatsuya)^{3†}

Key Words : 肌のバリア機能評価試験, ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験, 乳糖果糖オリゴ糖, ラクトスクロース, 4^G-β-D-galactosylsucrose

Effect of Lactosucrose Supplementation on Skin Barrier Function: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Parallel-Group Comparison Study

Authors: Koki Fujita^{1*}, Naoko Suzuki², Tatsuya Izumi^{3†}

Corresponding author: Koki Fujita¹

Affiliated institutions:

¹ ENSUIKO SUGAR REFINING CO., LTD.

[New ESR Bldg., 2-9-6 Nihonbashi Horidomecho, Chuo-ku, Tokyo, Japan]

² ORTHOMEDICO Inc.

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

³ Hiroo Dermatology Clinic & Mentors inc.

[1&2F Hiroo Masugi Annex Bldg., 5-25-5, Hiroo, Shibuya-ku, Tokyo, Japan]

Abstract

Objective: This study was designed to evaluate the impact of a 12-week dietary intervention with lactosucrose (LS; lactosyl fructoside) on the skin barrier function in healthy individuals.

Methods: A randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group trial was conducted. Among healthy Japanese adult men and women who provided informed consent and met the eligibility criteria, individuals with relatively high transepidermal water loss (TEWL) at baseline were randomly assigned, using computer-generated sequences to receive either the LS-containing food or a placebo ($n = 30$ per group). The participants consumed 2 g/day of LS or placebo for 12 weeks at breakfast. The evaluation parameters were TEWL and skin surface hydration, while the primary outcome was TEWL after 12 weeks of intervention.

Results: The full analysis set comprised 58 participants (LS group: $n = 30$; placebo group: $n = 28$), excluding two individuals who withdrew after allocation but prior to the intervention. Although no significant difference in TEWL was observed between the groups at week 12, skin surface hydration was significantly higher in the LS group than in the

* 責任著者: 藤田 孝輝 (Koki Fujita)¹

† 試験責任医師: 和泉 達也 (Tatsuya Izumi)³

所属機関:

¹ 塩水港精糖株式会社 (東京都中央区日本橋堀留町 2 丁目 9 番 6 号 ニュー ESR ビル)

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

³ 広尾皮膚科クリニック (東京都渋谷区広尾 5-25-5 広尾枳儀アネックスビル 1・2 階)

placebo group (estimated marginal mean $\pm$ standard error: placebo: 54.7 ± 2.9 ; LS: 69.0 ± 2.8 ; estimated marginal mean difference: 14.3; 95% confidence interval: 6.2–22.4; $P = 0.001$). No adverse events were observed under the conditions of this study.

Conclusions: These results suggest that 12-week LS supplementation improves skin barrier integrity by maintaining skin surface hydration in healthy individuals.

Trial registration: UMIN000057384

Foundation: ENSUIKO SUGAR REFINING CO., LTD.

Key Words: Skin barrier function, Randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group comparison study, Lactosyl fructoside, Lactosucrose, 4^G- β -D-galactosylsucrose

抄録

目的：本試験は、乳糖果糖オリゴ糖 (LS) 含有食品の 12 週間の摂取が健常者の肌のバリア機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

方法：試験デザインは、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験であった。試験参加に同意し、適格基準を満たした健常な日本人成人男女のうち、スクリーニング検査の経皮水分蒸散量 (TEWL) が相対的に高い者を対象に LS 含有食品、あるいはプラセボを摂取させる群に 30 例ずつコンピューター乱数にてランダムに割り付けた。試験参加者には LS を 2 g/日、あるいはプラセボを朝食時に 12 週間摂取させた。評価項目は、TEWL および皮膚表面水分量とし、主要アウトカムは、介入 12 週間後検査における TEWL とした。

結果：試験参加者のうち、割付け後に介入を一度も受けていなかった 2 例を除いた full analysis set とし、58 例 (LS 群 30 例、プラセボ群 28 例) を解析対象とした。介入 12 週間後検査における TEWL について群間有意差は認められなかったものの、皮膚表面水分量においては LS 群がプラセボ群よりも有意に高値を示した (推定周辺平均 $\pm$ 標準誤差: プラセボ群 54.7 ± 2.9 , LS 群 69.0 ± 2.8 , 群間差 14.3, 95% 信頼区間 6.2–22.4, $P = 0.001$)。なお、本試験条件下において有害事象は確認されなかった。

結論：LS の 12 週間の摂取は、健常者における皮膚表面水分量を維持させることで、肌のバリア機能の健全性を高めることが示唆された。

事前登録

UMIN-CTR: UMIN000057384

資金提供者

塩水港精糖株式会社

はじめに

近年、腸内細菌叢が生体の健康維持に重要な役割を担うことが明らかにされてきており、皮膚においても腸内細菌叢由来の代謝産物が血流を介して到達し、生理機能に影響を及ぼすことが明らかにされつつある^{1,2)}。

腸内細菌による代謝産物は、菌種や細菌間の相互

作用、および基質となる食品成分によって異なり、皮膚の状態を左右する要因となる。例えば、食事由来のタンパク質やアミノ酸が腸内細菌によって代謝されると、アンモニア、インドール、フェノール類 (フェノール、p-クレゾール) などのタンパク質腐敗化合物が産生される³⁾。これらフェノール類は、腸管から吸収されて血中へ移行し、皮膚に到達する

と表皮の大部分を占めるケラチノサイトの分化を抑制することが知られている⁴⁾。これにより皮膚のターンオーバーが乱れ、結果として表皮の新陳代謝およびバリア機能の低下を招き⁵⁾、皮膚の保湿力が損なわれると考えられる。

このように腸内細菌は有害な代謝産物を生む一方で、有益な代謝産物も産生する。難消化性オリゴ糖や水溶性食物繊維が代謝されることで産生される短鎖脂肪酸 (SCFA) は、大腸内で制御性 T 細胞 (Treg) を活性化することで全身の炎症反応を抑制するだけでなく⁶⁾、動物モデルにおいて、SCFA である酪酸ナトリウムの投与は、特定の炎症性皮膚疾患で減少している Treg の割合を回復させるとともに、その転写因子である FOXP3 の遺伝子発現を正常化し、接触皮膚過敏反応の抑制に寄与することが報告されている^{7,8)}。SCFA は、血流を介して各臓器に作用し⁹⁾、皮膚においてもその恒常性維持に寄与することが示唆されていることから¹⁰⁾、前述した腐敗化合物による皮膚への悪影響を緩和し、肌のバリア機能の健全性を維持する重要な役割を担うと考えられる。

乳糖果糖オリゴ糖 (ラクトスクロース; LS) は難消化性オリゴ糖であり、1 日あたり 2~8 g の摂取で便性状を改善する整腸効果を有する特定保健用食品の関与成分として認められている¹¹⁾。

これまでの研究では、LS の摂取は糞便中のアンモニアやフェノール類などのタンパク質腐敗化合物を有意に低下させること¹²⁻¹⁵⁾、盲腸内あるいは糞便中の SCFA (酢酸、乳酸等) を増加させることが報告されている^{12, 15)}。これらの知見から、LS の摂取によるタンパク質腐敗化合物の産生抑制と SCFA の産生促進の両面的なアプローチは、肌のバリア機能維持に寄与することが期待される。

しかし、類似の難消化性オリゴ糖 (ガラクトオリゴ糖) や水溶性食物繊維 (イヌリン) において皮膚生理機能の改善効果が報告されている一方で^{16, 17)}、LS そのものがヒトの皮膚に及ぼす影響については、未だ十分な検証がなされていない。

そこで本研究では、LS を 1 日 2 g 摂取した際の肌のバリア機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。なお、肌のバリア機能の障害は、通常、角質層の水分量の低下と TEWL の増加を伴うことから¹⁸⁾、本試験では TEWL および皮膚表面水分量の両項目をアウトカムとして扱うこととした。

I. 対象と方法

1. 試験デザイン

本試験はランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験で実施した。割付比は 1:1 であった。本試験は、医療法人社団盛心会タカラクリニック倫理委員会の承認 (承認日 2025 年 3 月 12 日、承認番号 2503-00077-0045-21-TC) を得た後、UMIN-CTR に登録された (一般公開日 2025 年 3 月 24 日、登録番号 UMIN000057384、登録試験名「被験食品摂取による、肌のバリア機能評価試験：ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験」; https://center6.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr_view.cgi?recptno=R000065566)。また、ヘルシンキ宣言および人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針の趣旨に則り、医学倫理に十分配慮し実施した。

2. 参加者

試験参加者の募集は、受託臨床試験機関 (CRO) である株式会社オルトメディコ (東京都文京区) が運営するモニター募集サイト Go トーロク (<https://www.go106.jp/>) で行い、試験参加を希望する者にはネットワークを介して試験内容を十分に説明し、電磁的方法によってインフォームドコンセントを得た。試験参加者に、本試験の主宰者および資金提供者企業に所属している者は含めなかった。

本試験の選抜基準は次のとおりであった。

- (1) 日本人、
- (2) 男女両方、
- (3) 成人、
- (4) 健常者、
- (5) スクリーニング検査 (Baseline) の TEWL が高い者。

また、次の条件を除外基準とした。

- (1) 悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞の治療中もしくは既往歴がある者、
- (2) ペースメーカーや植え込み型除細動器を埋め込んでいる者、
- (3) 不整脈、肝障害、慢性腎臓病、脳血管障害、リウマチ性疾患、糖尿病、脂質異常症、高血圧症、その他の慢性疾患治療中の者、
- (4) 特定保健用食品、機能性表示食品を摂取している者、

- (5) 医薬品（漢方薬を含む）・サプリメントを摂取 / 使用している者、
 - (6) 便通に影響を及ぼす可能性のある医薬品、健康食品、特定保健用食品、機能性表示食品あるいは便通に影響する成分を強化した食品（納豆やキムチ、漬物などの発酵食品、食物繊維が強化された食品等）を日頃から摂取している者、
 - (7) 試験期間中に海水浴等の日光に多くあたる旅行等の予定がある者、
 - (8) アトピー性皮膚炎と診断されたことがある者、
 - (9) 日常的なスキンケアとして、クリーム・美容液・オールインワン製品・パック等化粧水・乳液・日焼け止め以外を使用している者、
 - (10) 日常的にスキンケアの施術（エステ等）を受ける、もしくは美容器具（美顔器等）を使用している者、
 - (11) 美容に関する外科手術を過去に行った者、
 - (12) アレルギー（医薬品・試験品関連食品）がある者、
 - (13) 乳糖不耐症の者、
 - (14) 妊娠中、授乳中、あるいは試験期間中に妊娠する意思のある者、
 - (15) 同意取得日以前の 28 日間において他の臨床試験に参加していた者、あるいは試験期間中に参加予定のある者、
 - (16) その他、試験責任医師が本試験の対象として不適切と判断した者。
- なお本試験では、試験参加中の遵守事項として以下の点を徹底するよう求めた。
- (1) 試験品を定められた用法・用量の通り摂取する。
 - (2) 試験品を摂取率 80% 以上となるよう摂取する。
 - (3) 試験の同意取得日から最終検査までは、暴飲暴食を避け、それまでの生活習慣を変えない。
 - (4) 各検査前日から当日の検査終了までは飲酒と過度の運動を行わない。
 - (5) 採血を行う 6 時間前から飲食を禁止する。試験品の摂取も禁止とする。ただし、水のみ摂取可能とする。機能水、お茶は不可とする。
 - (6) 試験期間中は化粧習慣を変えない（化粧水や乳液などのスキンケアも含む）。
 - (7) 試験期間中は過度の日焼けをしない。
 - (8) 検査当日は検査終了まで入浴、シャワー、洗顔シート・ボディシート・制汗スプレー・ハンドクリームの使用を禁止する。
 - (9) 試験期間中はスキンケアを目的とした施術（エステ、マッサージ等）を受けない。
 - (10) 試験期間中に体調の変化が生じた場合は、直ちに CRO に連絡し、以後の対応の指示を仰ぐ。
 - (11) 試験期間中は、特定保健用食品、機能性表示食品、その他の機能性が考えられる食品 / 飲料をなるべく摂取しない。

試験実施責任機関は、広尾皮フ科クリニック（東京都渋谷区）であり、広尾皮フ科クリニックが取得したデータの評価や試験参加者の健康管理などを行ったが、検査は協力医療機関である医療法人社団盛心会タカラクリニック（東京都品川区）にて行われた。

3. 介入

本試験の介入に用いた試験品の 1 日摂取量あたりの原材料組成を表 1 に示した。朝食時に LS 含有食品（オリゴのおかげ；塩水港精糖株式会社、東京都中央区）あるいはプラセボを 1 日 1 包、12 週間摂取させた。LS 含有食品は、1 包あたり LS を 2 g 含

表 1 試験品の組成割合（1 包 / 日当たり）

名称	原材料名	容量
乳糖果糖オリゴ糖 (LS) 含有食品（オリゴのおかげ）	乳糖果糖オリゴ糖	2,223 mg
	ショ糖	1,901 mg
	乳糖	273 mg
	その他	478 mg
	水	1,625 mg
プラセボ	マルトース	1,868 mg
	グルコース	1,788 mg
	その他	894 mg
	水	1,950 mg

む規格とした。試験品の形状はいずれもアルミスティック状であり、試験開始前の倫理審査時に外観、形状、色、におい、味によって判別できないことが確認された。

4. 評価項目

本試験では有効性評価項目として、TEWL および皮膚表面水分量の測定を実施した。いずれの評価も Baseline、介入 12 週間後検査（12 wk）に実施した。また、安全性評価項目として、身体測定、尿検査および末梢血液検査を Baseline および 12 wk に実施した。加えて、試験参加者の健康状態を確認するため、各検査日（来院時）に問診を実施し、栄養価日記 CAND（Calorie and Nutrition Diary）を用いて各検査日の前 3 日間の食事調査を実施した。さらに、試験参加者には、試験品の摂取や体調の変化、医薬品の使用などの生活状況を日誌に毎日記録させた。

(1) TEWL

Baseline および 12 wk における TEWL について Tewameter[®] TM 300（Courage + Khazaka electronic GmbH, ドイツ）を用いて測定した。測定は、クレンジングおよび洗顔後（メイクアップ、化粧水等も使用していない状態）の頬（右目尻から垂直に下した線と鼻中心から地面に平行に伸ばした線との交点：頬骨周辺）で行われた。本試験では、12 wk における TEWL を主要アウトカムとして評価した。

(2) 皮膚表面水分量

Baseline および 12 wk における皮膚表面水分量について Corneometer[®] CM 825（Courage + Khazaka electronic GmbH, ドイツ）を用いて測定した。測定は、クレンジングおよび洗顔後（メイクアップ、化粧水等も使用していない状態）の頬（右目尻から垂直に下した線と鼻中心から地面に平行に伸ばした線との交点：頬骨周辺）で行われた。本試験では、12 wk における皮膚表面水分量を副次的アウトカムとして評価した。

(3) 安全性評価項目

身体測定では、身長、体重、収縮期血圧、拡張期血圧を測定し、身長および体重から body mass index (BMI) を算出した。尿検査では、尿蛋白定性、尿

糖定性、尿 pH、尿潜血反応を測定した。各項目は、株式会社 LSI メディエンス（東京都港区）にて常法に従って測定された。末梢血液検査では、血液学検査項目として、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、血液生化学検査項目として、ALT、AST、 γ -GT、総ビリルビン、総蛋白、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、ナトリウム、カリウム、クロール、血清アミラーゼ、総コレステロール、HDL- コレステロール、LDL- コレステロール、中性脂肪、グルコース、ヘモグロビン A1c (NGSP 値) を測定した。各項目は、株式会社 LSI メディエンスにて常法に従って測定された。

また本試験では、試験期間中に試験参加者から自己申告された内容のうち、身体的兆候や症状等において、試験責任医師が試験参加者にとって臨床的に意味のある「新たな異常の発現」あるいは「増悪」が認められた場合を有害事象と定義し、確認された有害事象の発現例数を集計することとした。有害事象と認められる症状が発現した場合、試験責任医師は直ちに必要かつ適切な処置を行うと共に、当該試験参加者の試験継続の可否およびエマージェンシーキーの開錠の可否を判断することとした。また、試験責任医師は有害事象と試験品との関連性について評価を行い、文書にて報告することとした。

5. サンプルサイズ

本試験は、試験の予算で実現可能な最大限の人数として、56 名を目標症例数とした。また、試験期間中の脱落を考慮し、各群につき 2 名多く参加することとし、実施症例数は 60 名とすることとした。

6. 選抜、ランダム化と盲検化

試験品は、主宰者である塩水港精糖株式会社（東京都中央区）から CRO に提供され、CRO の試験品発送担当者は、試験品の識別不能性の確認および介入前検査のデータ入力・確認を行った後、試験に直接関与していない割付責任者に識別番号を伝えた。

本試験における割付けは無作為ブロックサイズによるブロックランダム割付けを採用し、割付責任者は R Ver. 4.5.0 (blockrand Ver. 1.5; Snow, 2020-04-06) で生成された割付表に従って、試験参加者を LS 群あるいはプラセボ群のいずれかに等分 (1:1) に割り付けた。作成された割付表は、CRO の試験品発

送担当者にのみ提供され、同担当者は割付表に従って試験に組み入れられた試験参加者へ試験品を送付した。盲検化の対象は、主宰者、試験責任医師、試験分担医師、試験品発送担当者を含む全ての試験実施医療機関のスタッフ（試験担当責任者、実施運営責任者、モニタリング担当者、統計解析担当者・責任者など）、試験実施機関のスタッフ、倫理委員会の構成メンバー、ならびに臨床検査委託機関であり、割付表は症例および統計解析手法が固定されるまで、割付責任者によって封緘・保管された。

7. 統計解析

すべての統計解析は両側検定で行うものとし、有意水準は5%に設定した。ソフトウェアは、Windows版のSPSS Ver. 23.0（日本アイ・ビー・エム(株)、東京都中央区）とした。

試験参加者背景は、性別、年齢、身長、体重、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧およびTEWLでまとめ、性別は群における該当人数と群内の割合、その他の項目は平均値（Mean）および標準偏差（SD）で示した。

TEWLおよび皮膚表面水分量について、BaselineのデータはMeanとSD、Meanの群間差（LS群-プラセボ群）とその95%信頼区間（CI）で示し、Welchの t 検定により群間比較を行った。また、12wkのデータはMeanとSD、推定周辺平均（EMM）と標準誤差（SE）、EMMの群間差（LS群-プラセボ群）とその95%CIで示し、Baselineを共変量、群（LS群、プラセボ群）を因子とした共分散分析を用いて群間比較を行った。

安全性評価項目について、有害事象の発現例数と発現率を算出し、各群の有害事象発現率について比率の差の検定を用いて群間比較を行った。また、Baselineに基準値内であった尿検査および末梢血液検査の各測定値が介入後において基準値外に変動した症例も、試験参加者ごとに集計、また変動した症例とその該当率を群別に集計し、データは群別の該当率および群間の該当率の差とその95%CIで示し、比率の差の検定により群間比較を行った。なお、欠測への対応として、Complete case analysisを実施することとした。

本試験におけるデータセットの扱いは、試験計画時に以下のように定義した。Intention to treat（ITT）

は、インフォームドコンセントを提供し、当該試験に組み入れられた全ての症例とした。Full analysis set（FAS）は、ITTで次の条件に1つ以上当てはまる症例を除外した集団とした。

- (1) 割り付けられた介入の提供を受けていない症例、
- (2) 対象集団の条件を満たさない症例（確定診断によりなんらかの疾患が判定された症例や、明確に定義された客観的に判定可能な重要な選択・除外基準に抵触する症例）、
- (3) 割り付け後に介入を一度も受けていない症例、
- (4) 割り付け後のデータが全くない症例。

Per protocol set（PPS）は、FASで次の条件に1つ以上当てはまる症例を除外した集団とする。

- (1) 試験品の摂取率が80%未満の症例、
- (2) 日誌記録の欠損など、試験結果の信頼性を損なう行為が顕著な症例、
- (3) 除外基準に該当していたことが試験組入れ後に明らかになった症例、
- (4) 試験期間中の遵守事項違反が判明した症例、
- (5) 試験期間中に試験結果に著しく影響がでる事が想定される食事の摂取や医薬品を使用した症例、
- (6) 試験登録時の生活習慣と著しく異なる活動を行った症例、
- (7) その他、除外することが適当と考えられる明らかな理由があった症例。

II. 結果

1. 解析対象者

図1に試験参加者の追跡フローチャートを示した。参加者の募集は2025年3月27日から2025年5月8日の間に行い、試験期間は2025年4月4日から2025年10月15日であった。試験参加に同意した119例のうち、適格基準を満たした60例を本試験に組み入れ、LS群とプラセボ群に30例ずつ割り付けた。全員が割り付けられた介入の提供を受けたが、12wkに来院しなかった症例2例（プラセボ群）が確認され、いずれの症例も割り付け後に介入を一度も受けていなかったため解析から除外した。よって、有効性評価項目の解析データセットはFASとし、解析対象者は58例（LS群30例、プラセボ群28例）であった。試験参加者の背景を表2に示した。

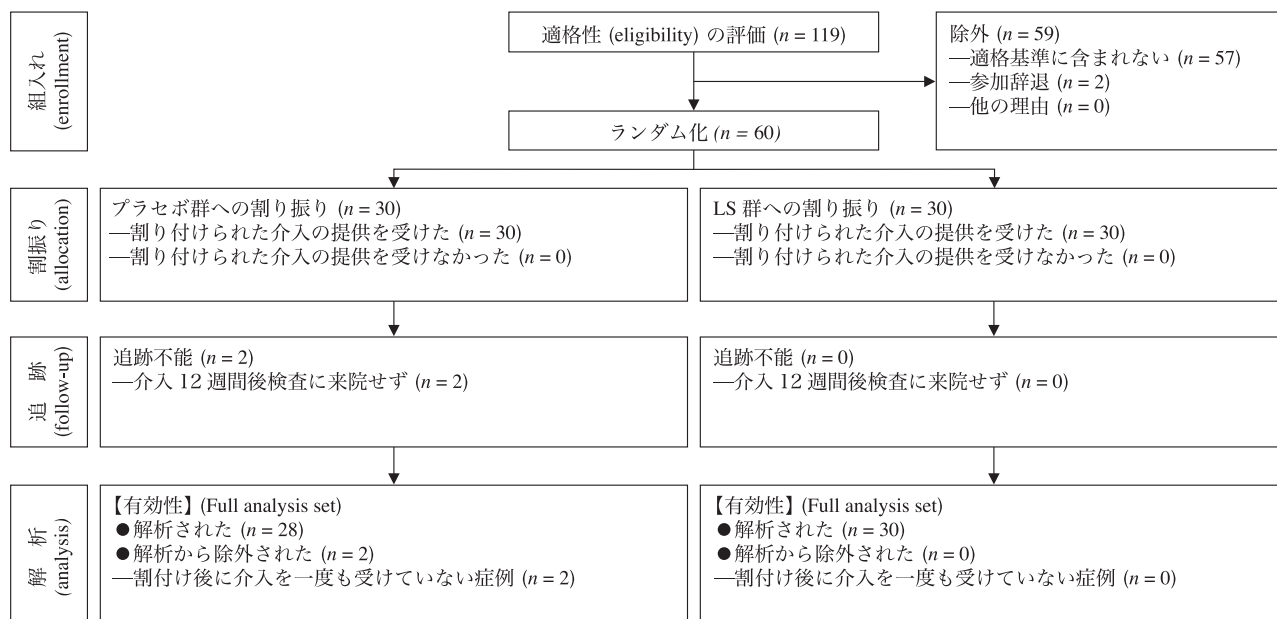


図 1 試験参加者の追跡フローチャート

2. TEWL および皮膚表面水分量への影響

TEWL および皮膚表面水分量のいずれも Baseline において群間有意差は認められなかった。12 wk において、TEWL についてはプラセボ群が 19.6 ± 0.9 g/m²/h, LS 群が 19.2 ± 0.9 g/m²/h であり (群間差: -0.5 g/m²/h [$-2.9, 2.0$]), 群間有意差は認められなかった。一方、皮膚表面水分量では、プラセボ群が 54.7 ± 2.9 , LS 群が 69.0 ± 2.8 であり (群間差: 14.3 [6.2, 22.4], $P = 0.001$), LS 群が有意に高値を示した (表 3)。

3. 安全性評価

本試験において有害事象は確認されなかった。また、Baseline に基準値内であった尿検査および末梢血液検査の各測定値が介入後において基準値外に変

動した症例の結果を表 4 に示した。総ビリルビンに群間有意差が確認されたものの、LS 群において該当する症例は確認されず、身体測定、尿検査、末梢血液検査の各項目を含め、試験責任医師がこれら項目を確認し、試験品の摂取に伴う医学的に問題の

表 2 試験参加者背景

項目	プラセボ群 (n = 28)	LS 群 (n = 30)
男性	7 (25.0%)	9 (30.0%)
女性	21 (75.0%)	21 (70.0%)
年齢 (歳)	43.8 ± 11.4	45.2 ± 11.9
身長 (cm)	161.3 ± 7.6	162.8 ± 7.0
体重 (kg)	58.7 ± 9.4	56.6 ± 9.2
BMI (kg/m ²)	22.5 ± 3.1	21.3 ± 2.5
収縮期血圧 (mmHg)	117.8 ± 13.6	105.0 ± 14.5
拡張期血圧 (mmHg)	76.7 ± 10.0	68.2 ± 10.1
TEWL (g/m ² /h)	26.7 ± 7.9	25.3 ± 6.5

性別は該当人数 (割合) で示し、他の項目は平均値と標準偏差で示した。
BMI = Body mass index, TEWL = Transepidermal water loss

表 3 肌への影響

項目	時点	プラセボ群 (n = 28)				LS 群 (n = 30)				群間差	95%CI	P 値
		Mean	SD	EMM	SE	Mean	SD	EMM	SE			
TEWL (g/m ² /h)	Baseline	26.7	7.9	-	-	25.3	6.5	-	-	-1.5	(-5.3, 2.4)	0.450
	12 wk	19.9	6.0	19.6	0.9	18.9	4.1	19.2	0.9	-0.5	(-2.9, 2.0)	0.702
皮膚表面水分量 (-)	Baseline	61.9	14.3	-	-	56.7	19.9	-	-	-5.2	(-14.3, 3.9)	0.256
	12 wk	55.0	16.1	54.7	2.9	68.7	14.2	69.0	2.8	14.3	(6.2, 22.4)	0.001*

データは、平均値 (Mean) および標準偏差 (SD), 推定周辺平均 (EMM) および標準誤差 (SE) で示した。スクリーニング検査 (Baseline) の群間差は Mean の差とその 95% 信頼区間 (CI), 介入 12 週間後検査 (12 wk) の群間差は EMM の差とその 95% CI で示した。* $P < 0.05$

TEWL = Transepidermal water loss

表 4 スクリーニング検査に基準値内であった尿検査および末梢血液検査の各測定値が介入後において基準値外に変動した症例

項目	時点	プラセボ群 (n = 28)		LS 群 (n = 30)		群間比較				
		該当例数	該当率 (%)	該当例数	該当率 (%)	OR	95% CI	該当率 の差 (%)	95% CI	P 値
尿蛋白定性	12 wk	1	3.6	0	0.0	NA	(NA, NA)	-3.6	(-10.3, 3.1)	0.296
尿糖定性	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
尿 pH	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
尿潜血反応	12 wk	1	3.6	2	6.7	1.9	(0.2, 22.5)	3.1	(-8.3, 14.5)	0.595
白血球数	12 wk	1	3.6	2	6.7	1.9	(0.2, 22.5)	3.1	(-8.3, 14.5)	0.595
赤血球数	12 wk	1	3.6	3	10.0	3.0	(0.3, 30.7)	6.4	(-6.6, 19.5)	0.334
ヘモグロビン	12 wk	0	0.0	1	3.3	NA	(NA, NA)	3.3	(-3.4, 10.0)	0.330
ヘマトクリット値	12 wk	0	0.0	3	10.0	NA	(NA, NA)	10.0	(-1.4, 21.4)	0.086
血小板数	12 wk	2	7.1	0	0.0	NA	(NA, NA)	-7.1	(-16.5, 2.3)	0.136
AST	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
ALT	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
γ-GT	12 wk	1	3.6	0	0.0	NA	(NA, NA)	-3.6	(-10.3, 3.1)	0.296
総ビリルビン	12 wk	4	14.3	0	0.0	NA	(NA, NA)	-14.3	(-27.3, -1.2)	0.032*
総蛋白	12 wk	0	0.0	3	10.0	NA	(NA, NA)	10.0	(-1.4, 21.4)	0.086
尿素窒素	12 wk	3	10.7	0	0.0	NA	(NA, NA)	-10.7	(-22.1, 0.7)	0.066
クレアチニン	12 wk	0	0.0	2	6.7	NA	(NA, NA)	6.7	(-2.7, 16.1)	0.164
尿酸	12 wk	1	3.6	1	3.3	0.9	(0.1, 15.6)	-0.2	(-9.6, 9.2)	0.960
ナトリウム	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
カリウム	12 wk	0	0.0	1	3.3	NA	(NA, NA)	3.3	(-3.4, 10.0)	0.330
クロール	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA
血清アミラーゼ	12 wk	2	7.1	3	10.0	1.4	(0.2, 9.4)	2.9	(-11.6, 17.3)	0.698
総コレステロール	12 wk	4	14.3	2	6.7	0.4	(0.1, 2.5)	-7.6	(-23.3, 8.1)	0.341
HDL- コレステロール	12 wk	3	10.7	0	0.0	NA	(NA, NA)	-10.7	(-22.1, 0.7)	0.066
LDL- コレステロール	12 wk	1	3.6	1	3.3	0.9	(0.1, 15.6)	-0.2	(-9.6, 9.2)	0.960
中性脂肪	12 wk	1	3.6	2	6.7	1.9	(0.2, 22.5)	3.1	(-8.3, 14.5)	0.595
グルコース	12 wk	0	0.0	1	3.3	NA	(NA, NA)	3.3	(-3.4, 10.0)	0.330
ヘモグロビン A1c	12 wk	0	0.0	0	0.0	NA	(NA, NA)	0.0	(NA, NA)	NA

データは、各群における該当例数および該当率 (%) で示した。群間比較は、オッズ比 (OR) およびその 95% 信頼区間 (CI)、該当率の差およびその 95% CI で示した。

12 wk = 介入 12 週間後検査, NA = Not Available, AST = Aspartate aminotransferase, ALT = Alanine aminotransferase, γ-GT = Gamma glutamyl transpeptidase

*P < 0.05

ある変動が生じていないことを確認した。

III. 考察

本試験の結果、主要アウトカムである 12 wk における TEWL に群間有意差は認められなかった。しかし、副次的アウトカムである 12 wk における皮膚表面水分量では、プラセボと比較して LS の摂取による有意な改善が確認された。本試験で皮膚表面水分量の測定に用いた Corneometer® の測定値について、本試験の測定部位とした頬においては、60 を超えていれば「sufficiently moisturized」、50 以上 60 以下を「dry」、50 未満を「very dry」と判定する¹⁹⁾。両群の介入前後の結果を確認すると、プラセボ群は

61.9「sufficiently moisturized」から 55.0「dry」へと判定区分が悪化したのに対し、LS 群は 56.7「dry」から 68.7「sufficiently moisturized」へと改善を示しており、LS の摂取による皮膚表面水分量の変動は、臨床的にも意義のあるものであることを示唆している。

中国（昆明市）在住の 19~28 歳の健常な女性を対象に、頬の各種皮膚評価指標の季節変動を調査した研究では、TEWL は夏季に低く冬季に高いというように、春季と夏季および夏季と冬季の間に季節変動を示すことが報告されている²⁰⁾。対象集団や地域は本試験とは異なるものの、TEWL が季節的影響を受けるという点は本試験結果の解釈と整合的である。さらに、乾燥環境への曝露は肌のバリア機能

に影響を及ぼすことが示唆されており²¹⁾、スクリーニングが実施された春季（4月）と比較して、介入期間に該当する初夏から秋季では相対的に湿度が高かった可能性がある。実際に両群で介入後に TEWL の低下傾向が観察されており、こうした環境要因に伴う季節変動がデータ内の分散（群内変動）を増大させ、介入効果の検出を困難にした可能性が考えられる。

一方で、皮膚表面水分量も夏季に高く冬季に低い変動を示すが、その年間変動幅は約9と報告されている²⁰⁾。本試験の12 wkにおける皮膚表面水分量の群間差は14.3であり、この季節変動幅を上回っていたことから、皮膚表面水分量の有意な増加が、単なる季節的影響によるものではなく、LSの摂取に起因する医学的に意義のある変化であったことを裏付けている。

LSの作用機序として、腸内環境の改善を介した「腸・皮膚相関」の関与が推察される。LSは、皮膚のターンオーバーを低下させるタンパク質腐敗化合物⁴⁾の産生を抑制することが報告されている^{13,15)}。また、LSの摂取は、腸内細菌によるSCFAの産生を亢進させるが¹⁵⁾、SCFAは皮膚におけるバリア機能や炎症反応に影響を及ぼすことが知られている²²⁾。さらに、プロバイオティクスは、セラミドやタイトジャンクションタンパク質などの必須構造因子の合成を促進することで、肌のバリア機能の健全性を高めると考えられている^{22,23)}。したがって、LSの摂取によるこれらの複合的な作用により、肌のバリア機能が健全化され、結果として皮膚表面水分量の増加をもたらしたと推察される。

本研究にはいくつかの限界が存在する。第一に、LSの作用機序として腸内細菌叢や代謝産物の変化が強く関連していると考えられるが、本試験ではこれらの評価を実施していない。今後は、皮膚関連指標と並行して糞便中の代謝産物や菌叢プロファイルの評価し、詳細なメカニズムを解明する必要がある。第二に、季節変動の影響を完全に排除しきれなかった可能性がある。皮膚表面水分量は先述のとおり、夏季に増加する季節変動を示すが²⁰⁾、それにはいくつかの要因が挙げられる。一つは、発汗量が冬季に比べ夏季に増加することで、皮膚表面水分量の増加に繋がることである^{20,24)}。また、皮膚表面(角質層)におけるカリウムや乳酸などの天然保湿因子の含有

量は冬季に比べ夏季に高く、いずれも皮膚表面水分量と有意な正の相関を示す²⁵⁾。さらに、細胞間脂質の主成分であるセラミドの含有量は、夏に高く冬に低い季節変動を示すことが知られており、頬において皮膚表面水分量と特に強い相関が報告されている²⁶⁾。本試験のスクリーニング検査は2025年4月4日から5月28日、介入12週間後検査は2025年9月26日から10月15日に実施されたが、2025年は残暑が厳しく、介入12週間後検査期間の東京においても、最高気温が25℃以上である夏日が11日、さらには最高気温が30℃以上である真夏日が2日観測された^{27,28)}。なお、スクリーニング検査期間は夏日が13日、真夏日が1日であり^{29,30)}、各検査期間に観測された夏日および真夏日の日数に大きな差はないが、スクリーニング検査日が夏日または真夏日であった者は11名であったのに対し、介入12週間後検査日が夏日または真夏日であった者は51名であった。したがって、皮膚表面水分量の増加に関して、上述した夏季の季節的な要因の影響を受けた可能性があるため、本試験と異なる時季における再現性の確認が望まれる。

最後に、本試験は、症例数設計に基づかず少数例で実施されたことから、未知の交絡因子が結果に影響を及ぼした可能性が否定できない³¹⁾。ランダム化や統計解析手法によって背景因子の均一化や制御を試みてはいるが、その効果には限界があると考えられる³²⁾。今後は本知見に基づき、適切に症例設計された検証試験を行うことで、LSの皮膚に対する有効性のエビデンスをさらに確固たるものにする必要がある。

結論

本試験は、健常な日本人成人男女を対象に、LSを12週間摂取させた際の肌のバリア機能を評価した。その結果、LS含有食品の摂取は、皮膚表面水分量を増加させることで、肌のバリア機能の健全性を高めることが示唆された。

【利益相反】

本試験は、藤田孝輝の所属する塩水港精糖株式会社が主宰し、試験の実施および論文執筆に関わるすべての費用を負担した。鈴木直子の所属は、塩水港精糖株式会社が本試験を委託した株式会社オルトメ

ディコである。本試験の実施は塩水港精糖株式会社と株式会社オルトメディコが共同で行った。和泉達也は、広尾皮膚科クリニックに所属する本試験の責任医師であり、株式会社オルトメディコから試験の実施を委託され、試験に関わる費用は株式会社オルトメディコを経由して支払われた。なお、責任医師は研究に関連する企業の株は保有しておらず、謝金や研究寄付金などは受けていない。

【データ利用可能性に関する声明】

本研究に関するデータは機密保持のため一般公開しないが、正当な学術的理由があり、かつ試験依頼者との適切な機密保持契約が締結された場合に限り、責任著者への要求に応じて提供される場合がある。

【謝辞】

本研究にご協力いただいた試験参加者、測定スタッフに感謝の意を表します。

参考文献

1. De Pessemier B, Grine L, Debaere M, Maes A, Paetzold B, *et al.*: Gut-Skin Axis: Current Knowledge of the Interrelationship between Microbial Dysbiosis and Skin Conditions. *Microorganisms* **9**(2): 353, 2021.
2. Rios-Carlos M, Cervantes-García D, Córdova-Dávalos LE, Bermúdez-Humarán LG, Salinas E: Unraveling the gut-skin axis in atopic dermatitis: exploiting insights for therapeutic strategies. *Gut Microbes* **16**(1): 2430420, 2024.
3. Iizuka R, Kawakami K, Izawa N, Chiba K: Phenols produced by gut bacteria affect the skin in hairless mice. *Microb. Ecol. Health Dis.* **21**(1): 50–56, 2009.
4. Iizuka R, Kawakami K, Chiba K: Gut bacteria producing phenols disturb keratinocyte differentiation in human skin. *Microb. Ecol. Health Dis.* **21**(3–4): 221–227, 2009.
5. Al-Dhubaibi MS, Mohammed GF, Bahaj SS, Abdelniam AI, Al-Dhubaibi AM, *et al.*: The Role of Keratinocytes in Skin Health and Disease. *Dermatological Reviews* **6**(2): 2025.
6. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, *et al.*: Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* **504**(7480): 446–50, 2013.
7. Schwarz A, Bruhs A, Schwarz T: The Short-Chain Fatty Acid Sodium Butyrate Functions as a Regulator of the Skin Immune System. *J. Invest. Dermatol.* **137**(4): 855–864, 2017.
8. Schwarz A, Philippsen R, Schwarz T: Induction of Regulatory T Cells and Correction of Cytokine Disbalance by Short-Chain Fatty Acids: Implications for Psoriasis Therapy. *J. Invest. Dermatol.* **141**(1): 95–104.e2, 2021.
9. Ney LM, Wipplinger M, Grossmann M, Engert N, Wegner VD, *et al.*: Short chain fatty acids: key regulators of the local and systemic immune response in inflammatory diseases and infections. *Open Biol.* **13**(3): 230014, 2023.
10. Trompette A, Pernot J, Perdijk O, Alqahtani RAA, Domingo JS, *et al.*: Gut-derived short-chain fatty acids modulate skin barrier integrity by promoting keratinocyte metabolism and differentiation. *Mucosal Immunol.* **15**(5): 908–926, 2022.
11. 別添3 特定保健用食品（規格基準型）制度における規格基準 ., https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_for_specified_health_uses/notice/assets/food_labeling_cms201_220831_04.pdf, cited 7 March, 2025
12. 米山勝, 万代隆彦, 阿賀創, 藤井和子, 堺修造, 他.: ラット盲腸内容物 pH, 短鎖脂肪酸濃度および細菌叢に対するラクトスクロース投与の影響. 日栄・食糧会誌 **42**(2): 109–115, 1992.
13. 緒方幸代, 藤田孝輝, 石神博, 原耕三, 寺田厚 他.: 4^G-β-D-Galactosylsucrose (Lactosucrose) の少量摂取がヒト腸内フローラおよび糞便性状に及ぼす影響. 日栄・食糧会誌 **46**(4): 317–323, 1993.
14. Terada A, Hara H, Kato S, Kimura T, Fujimori I, *et al.*: Effect of lactosucrose (4^G-β-D-galactosylsucrose) on fecal flora and fecal putrefactive products of cats. *J. Vet. Med. Sci.* **55**(2): 291–5, 1993.
15. Hara H, Li S-T, Sasaki M, Maruyama T, Terada A, *et al.*: Effective Dose of Lactosucrose on Fecal Flora and Fecal Metabolites of Humans. *Bifidobacteria and Microflora* **13**(2): 51–63, 1994.
16. Hong YH, Chang UJ, Kim YS, Jung EY, Suh HJ: Dietary galacto-oligosaccharides improve skin health: a randomized double blind clinical trial. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **26**(4): 613–618, 2017.
17. 高橋美貴, 原健二郎, 清水邦義, 大貫宏一郎: イヌリン含有サプリメント摂取による腸内環境および排便症状や肌質に及ぼす改善効果. 薬理と治療 **50**(5): 927–935, 2022.
18. Wu Y, Ran J, Tanaka T, Liu Q: Quantitative skin surface hydration measurement by visible optical image processing: A pilot study. *Skin Research and Technology* **30**(6): e13773, 2024.
19. Courage + Khazaka electronic GmbH: Information and Operating Instructions for the CORNEOMETER CM 825®
20. Yang J, Tu Y, Man M, Zhang Y, Cha Y, *et al.*: Seasonal variations of epidermal biophysical properties in Kunming, China: A self-controlled cohort study. *Skin Research and Technology* **26**(5): 702–707, 2020.

21. 気象庁：東京（東京都）2025 年（月ごとの値）主な要素 ., https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=44&block_no=47662&year=2025&month=&day=&view=p1, cited 19 December, 2025.
22. Munteanu C, Turti S, Marza SM: Unraveling the Gut–Skin Axis: The Role of Microbiota in Skin Health and Disease. *Cosmetics* **12**(4): 167, 2025.
23. Salem I, Ramser A, Isham N, Ghannoum MA: The Gut Microbiome as a Major Regulator of the Gut–Skin Axis. *Front. Microbiol.* **9** 1459, 2018.
24. Matsumoto T, Kosaka M, Yamauchi M, Nakamura K, Yang G-J, *et al.*: Seasonal Variation of Thermal Sweating. *Tropical medicine* **32**(2): 73–80, 1990.
25. Nakagawa N, Sakai S, Matsumoto M, Yamada K, Nagano M, *et al.*: Relationship Between NMF (Lactate and Potassium) Content and the Physical Properties of the Stratum Corneum in Healthy Subjects. *Journal of Investigative Dermatology* **122**(3): 755–763, 2004.
26. Ishikawa J, Shimotoyodome Y, Ito S, Miyauchi Y, Fujimura T, *et al.*: Variations in the ceramide profile in different seasons and regions of the body contribute to stratum corneum functions. *Arch. Dermatol. Res.* **305**(2): 151–162, 2013.
27. 気象庁：東京（東京都）2025 年 9 月（日ごとの値）主な要素 ., https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/view/daily_s1.php?prec_no=44&block_no=47662&year=2025&month=9&day=&view=p1, cited 11 December, 2025.
28. 気象庁：東京（東京都）2025 年 10 月（日ごとの値）主な要素 ., https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/view/daily_s1.php?prec_no=44&block_no=47662&year=2025&month=10&day=&view=p1, cited 11 December, 2025.
29. 気象庁：東京（東京都）2025 年 4 月（日ごとの値）主な要素 ., https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/view/daily_s1.php?prec_no=44&block_no=47662&year=2025&month=4&day=&view=p1, cited 11 December, 2025.
30. 気象庁：東京（東京都）2025 年 5 月（日ごとの値）主な要素 ., https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/view/daily_s1.php?prec_no=44&block_no=47662&year=2025&month=05&day=&view=p1, cited 11 December, 2025.
31. 手良向聡：臨床試験におけるランダム化の意義と限界. 計量生物学 **41**(1): 37–54, 2020.
32. 丹後俊郎：良質の根拠を生む randomization の本質－科学研究者としてのセンス－. 保健医療科 **49**(4): 308–312, 2000.

ピロロキノリンキノン (PQQ) および イミダゾピロロキノリン (IPQ) の抗老化作用 (1) —成長, 寿命, 外観老化および筋機能に対する影響—

大寺 恵子 (ODERA Keiko)^{1*}, 田中 ゆか (TANAKA Yuka)¹, 池本 一人 (IKEMOTO Kazuto)²,
玉腰 優典 (TAMAKOSHI Masanori)³, 高橋 良哉 (TAKAHASHI Ryoya)^{1, 4*}

Key Words : PQQ, IPQ, 寿命, 筋機能, 老化, SAMP8

Anti-aging effects of pyrroloquinoline quinone (PQQ) and imidazopyrroloquinoline (IPQ) (1) —Implications for growth, lifespan, appearance aging, and muscle function—

Authors: Keiko Odera^{1*}, Yuka Tanaka¹, Kazuto Ikemoto², Masanori Tamakoshi³, Ryoya Takahashi^{1, 4*}

Corresponding authors: Ryoya Takahashi, Keiko Odera

Affiliated institution:

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University
[2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274-8510, Japan]

² Niigata Research Laboratory, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.
[182 Tayuhama, Kita-ku, Niigata City, Niigata 950-3112, Japan]

³ Life Science Division, Green Energy & Chemicals Business Sector, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.
[Mitsubishi building, 2-5-2 Chiyoda-ku, Tokyo 100-8324, Japan]

⁴ TaKaRyo Life Science Research and Education Lab (TaKaRyo Lab)
[1-12-18 Asahicho, Funabashi, Chiba 273-0041, Japan]

Abstract

Pyrroloquinoline quinone (PQQ) and its derivative imidazopyrroloquinoline (IPQ) are nutritionally important, vitamin-like compounds that exert various physiological effects, including cell-growth promotion, neuroprotection, and stimulations of mitochondriogenesis. PQQ and IPQ may act as potential anti-aging compounds that promote the extension of healthy lifespan. In this study, we investigated the effects of lifelong intake of 0.02% (w/w) PQQ and 0.02% (w/w) IPQ starting from weaning on lifespan and age-related changes of muscle function in male senescence-accelerated mouse-prone 8 (SAMP8) mice. The survival days at the 75th percentile was prolonged by 73% and 36% in the PQQ and IPQ groups, respectively, compared with that in the control. In addition, significant delays in the appearance of aging and age-related muscle function decline were observed. This study demonstrates that lifelong supplementation of PQQ and IPQ in mice reduces mortality risk during midlife and delays the progression of aging and age-related decline in muscular function. To the best of our knowledge, this is the first study to demonstrate that PQQ and IPQ supplementation initiated in the early age is effective in ameliorating age-related alterations, such as muscular function, and diminishes mortality risk during midlife in mice.

Key Words : PQQ, IPQ, lifespan, muscle function, aging, SAMP8

* 責任著者: 高橋 良哉 (Ryoya Takahashi), 大寺 恵子 (Keiko Odera)

¹ 東邦大学薬学部生化学教室 (〒 274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1)

² 三菱ガス化学株式会社新潟研究所 (〒 950-3112 新潟県新潟市北区太夫浜 182)

³ 三菱ガス化学株式会社グリーン・エネルギー & ケミカル事業部門 (〒 100-8324 東京都千代田区丸の内 2-5-2 三菱ビル)

⁴ TaKaRyo 生命科学教育研究ラボ (〒 273-0041 千葉県船橋市旭町 1-12-18)

要約

ピロロキノリンキノン (PQQ) とその誘導体であるイミダゾピロロキノリン (IPQ) は、栄養学的に重要なビタミン様化合物であり、細胞増殖促進、神経保護、ミトコンドリア新生促進など、さまざまな生理作用を有することが知られている。PQQ と IPQ は、健康寿命の延伸を促進する潜在的な抗老化物質である可能性がある。本研究では、離乳後からの PQQ と IPQ の摂取が、マウスの寿命や筋機能などの加齢変化に及ぼす影響を調べた。雄の老化促進モデルマウス (SAM) の P8 系統に 0.02% (w/w) PQQ 飼料と 0.02% (w/w) IPQ 飼料を与えたところ、75 パーセント生存日数は、それぞれ 73% と 36% 延長した。さらに、“見た目の老化速度”や加齢に伴う“筋機能低下”の有意な遅延が認められた。本研究は、PQQ あるいは IPQ の生涯にわたる摂取が中年期の死亡リスクを低下させ、外観や筋機能の老化の進行を遅らせることをマウスではじめて示した研究である。

1. はじめに

生活の質 (QOL) の維持・向上と健康寿命の延伸は、高齢化社会における最も重要な目標の一つである。サルコペニアは、加齢に伴う筋肉量の減少に伴う筋力が低下する状態であり、高齢者の QOL を著しく低下させる。この筋機能の低下は、立つ、歩く、姿勢制御といった日常の生活動作を制限するだけでなく、認知機能の低下や寿命の短縮にもつながる。

京都大学の竹田俊男らが開発した老化促進モデルマウス (SAM) は、寿命が約 1 年と短く、早期に老化兆候を示す近交系マウスである。例えば、SAM の P8 系 (SAMP8) は、加齢に伴う学習・記憶障害やサルコペニアを早期に呈する。そのため、SAMP8 マウスは、寿命や加齢に伴う学習記憶能や筋機能の低下に対する天然物や食品成分の効果を短期間に評価するために用いられている¹⁾。

近年、ピロロキノリンキノン (PQQ) は、潜在的な抗老化物質として注目を集めている (図 1)²⁻⁴⁾。何故なら、還元型 PQQ はビタミン C よりも強力なフリーラジカル消去能を持ち⁵⁾、ミトコンドリア合成を促進し⁶⁾、脳機能を改善することが知られるようになったからである^{7,8)}。イミダゾピロロキノリン (IPQ) は、PQQ とグリシンとの反応で合成される誘導体である (図 1)。IPQ は、酸化還元活性

を持たないが、PQQ とほぼ同等の生物活性を示す⁹⁾。このように、PQQ と IPQ に抗老化作用の可能性が示唆されていたが、マウスの寿命や老化への影響を長期的に検討した研究は行われていない。

本解説では、離乳後からの生涯にわたる PQQ と IPQ の摂取が、SAMP8 マウスの寿命、見た目の老化、加齢に伴う筋機能変化に与える影響について紹介する。

2. 成長とその後の体重に与える影響

体重や摂餌量の変化は、成長、健康や寿命への影響を評価する上で重要なパラメーターのひとつである。

離乳後から 3 月齢までの成長期において、コントロール群、PQQ 群、および IPQ 群の間で体重増加に有意差は認められなかった (図 2a)。生後 4 月齢以降、コントロール群の体重増加はほぼ停止したが、PQQ 群および IPQ 群では徐々に増加し続けた。生後 5 月齢では、PQQ 群および IPQ 群の平均体重はコントロール群よりも有意に高く (約 10%)、その後もほぼ同じ体重を維持していた。高齢期になると IPQ 群の体重は、約 10 月齢から徐々に減少しはじめ、18 月齢以降はコントロール群と同程度となった。しかし、PQQ 群の体重は高齢期でもコントロー

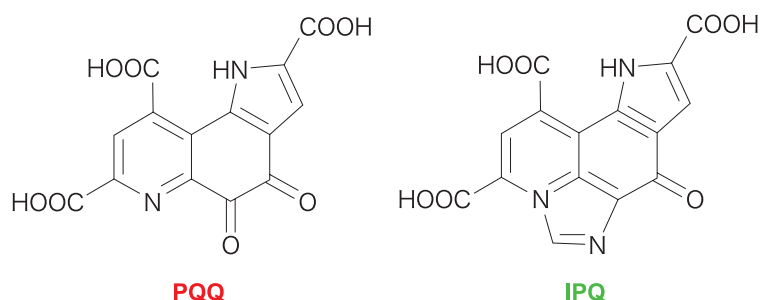


図 1 ピロロキノリンキノン (PQQ) とイミダゾピロロキノリン (IPQ) の化学構造

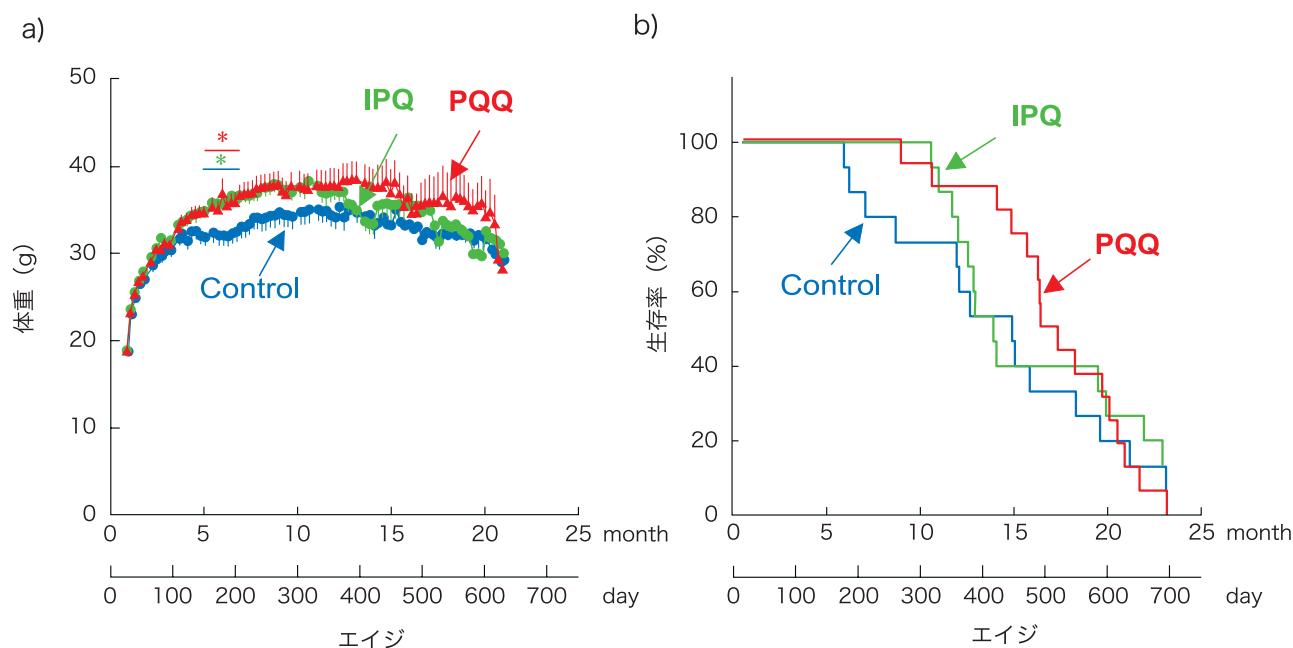


図2 PQQ および IPQ 摂取が雄 SAMP8 マウスの体重および寿命に及ぼす影響

ル群よりも約 10% 高い値を維持した (図 2a)。

摂餌量は、成長期(約 3 月齢まで)では全群で約 3.8 g/マウス/日であったが、その後全群で加齢とともに徐々に減少し、20 月齢では 3 月齢時の約 65% (約 2.5 g/マウス/日) に達した。このように、摂餌量に加齢変化がみられたが、コントロール群, PQQ 群, IPQ 群の間で有意差はなかった。すなわち, PQQ, IPQ の飼料への配合やそれに伴うわずかな色の変化 [コントロール餌 (白色), PQQ 餌 (極薄い赤色), IPQ 餌 (極薄い黄色)] は、マウスの嗜好性には影響を与えないことがわかった。

Rucker らの研究グループは、PQQ 欠乏食は仔マウスの成長を阻害することを報告した^{10,11)}。しかし、本研究では、PQQ または IPQ を含まない AIN-93M 精製食を与えたコントロール群において成長阻害は観察されなかった。これは、実験に使用した仔マウスが、大豆、魚肉、酵母、その他の成分から作られた市販の飼料 (CE-7, 日本クレア) を与えられた母マウスから生まれ、離乳まで育てられたためと考えられる。確かに、Rucker らも、PQQ 欠乏食に曝露されていない母マウスから生まれた仔マウスには、PQQ 欠乏食による成長阻害はほとんど見られなかった事を報告している¹¹⁾。

PQQ 群と IPQ 群の体重変化は、生後約 4 か月以降に認められた (図 2a)。先行実験では、中年および高齢のマウスに PQQ を与えることにより、加齢

に伴う体脂肪の著しい低下が抑制された¹²⁾。本実験の PQQ 群は、高齢でも健康的でややふっくらとした体型を維持していたが、これは PQQ の高齢動物に対する適度な脂肪保持効果によるためかもしれない。

3. 寿命に与える影響

コントロール群, PQQ 群および IPQ 群の Kaplan-Meier 生存曲線 (打ち切りなし) を図 2b に示した。死亡開始時期は、コントロール群では 6.1 月齢であるのに対し、PQQ 群と IPQ 群ではそれぞれ 9.1 月齢と 10.6 月齢であった。PQQ 群と IPQ 群の生存曲線をログランク検定と Gehan (Gehan-Breslow-Wilcoxon) 検定を用いて解析したところ、コントロール群と PQQ 群の全生存期間の比較 (ログランク検定 : $p=0.6570$, Gehan 検定 : $p=0.1559$), およびコントロール群と IPQ 群の全生存期間の比較 (ログランク検定 : $p=0.7957$, Gehan 検定 : $p=0.4247$) では、PQQ 群と IPQ 群の両方の p 値はログランク検定よりも Gehan 検定の方が小さい値であった。この検定結果は、若年から中年までの死亡リスクは PQQ と IPQ の摂取により低下していることを示唆する。このことを検証するために、各群の 75, 50, 25 パーセントイルの生存日数を調べたところ、75 パーセントイルの生存日数は、PQQ 群と IPQ 群でそれぞれ 73.2% と 36.1% 延長していた。PQQ 群で、75 お

表1 カプラン・マイヤー生存曲線における 75, 50 および 25 パーセンタイル生存時間のログランク検定および Gehan 検定

コントロール群 vs	個体数	75 パーセンタイル		50 パーセンタイル (中央値)		25 パーセンタイル	
		Log-rank (p)	Gehan (p)	Log-rank (p)	Gehan (p)	Log-rank (p)	Gehan (p)
PQQ	16	0.0067**	0.0114*	0.0109*	0.0165*	0.0915	0.0533
IPQ	15	0.0067**	0.0114*	0.6197	0.2463	0.4010	0.4542

ログランク検定および Gehan 検定の結果, PQQ 群の 75 パーセンタイルおよび 50 パーセンタイル生存時間と IPQ 群の 75 パーセンタイル生存時間は, コントロール群と比較して有意差があることが明らかになった ($p<0.05$, ** $p<0.01$)。

および 50 パーセンタイルまでの区間でのログランク検定と Gehan 検定を行ったところ, 両方において有意差が認められた(表1)。IPQ 群では, コントロール群と比較して, 両検定において有意であったのは 75 パーセンタイルまでであった(表1)。これらの結果は, PQQ および IPQ の摂取, 特に PQQ の摂取が, 中年期マウスの死亡率を低下させたことを示唆している。

線虫では, IPQ による寿命延長効果が認められないことから¹³⁾, マウスには, 酸化還元反応のみに依存しない寿命延長メカニズムが存在することが示唆される。この新たなメカニズムの解明は, 今後の研究における重要な課題である。

4. 見た目の老化速度に与える影響

加齢に伴うマウスの見た目(外観)の変化は, 細川ら¹⁴⁾が開発した老化度評価システムにより評価した。被毛の光沢, 粗さ, 脱毛, および皮膚潰瘍を

5段階(グレード0: 変化なし, グレード4: 最も重度の変化)で評価し, これらのスコアの合計を見た目の老化度スコアとした。

加齢に伴う外観変化の写真を図3aに示した。3群すべてにおいて, 被毛の状態は加齢とともに徐々に悪化した。特に, 光沢と粗さは加齢に伴って顕著な変化を示した。注目すべきは, PQQ 群と IPQ 群では, 見た目の老化度スコアの上昇がコントロール群よりも有意に遅延していたことである(図3b)。

このように PQQ と IPQ は, 初期死亡率を低下させるだけでなく, 健康で艶やかな被毛を維持し, 見た目の老化の進行を抑制した。飼料中の PQQ と IPQ が皮膚まで到達し, 毛包の機能維持に関与した可能性がある。事実, 放射性標識 PQQ を経口投与したマウスでは, PQQ は小腸下部で速やかに吸収され, 24 時間以内に皮膚に蓄積することが報告されている。また, PQQ は, 皮膚バリア機能障害と乾燥肌を改善することが知られている。見た目の老

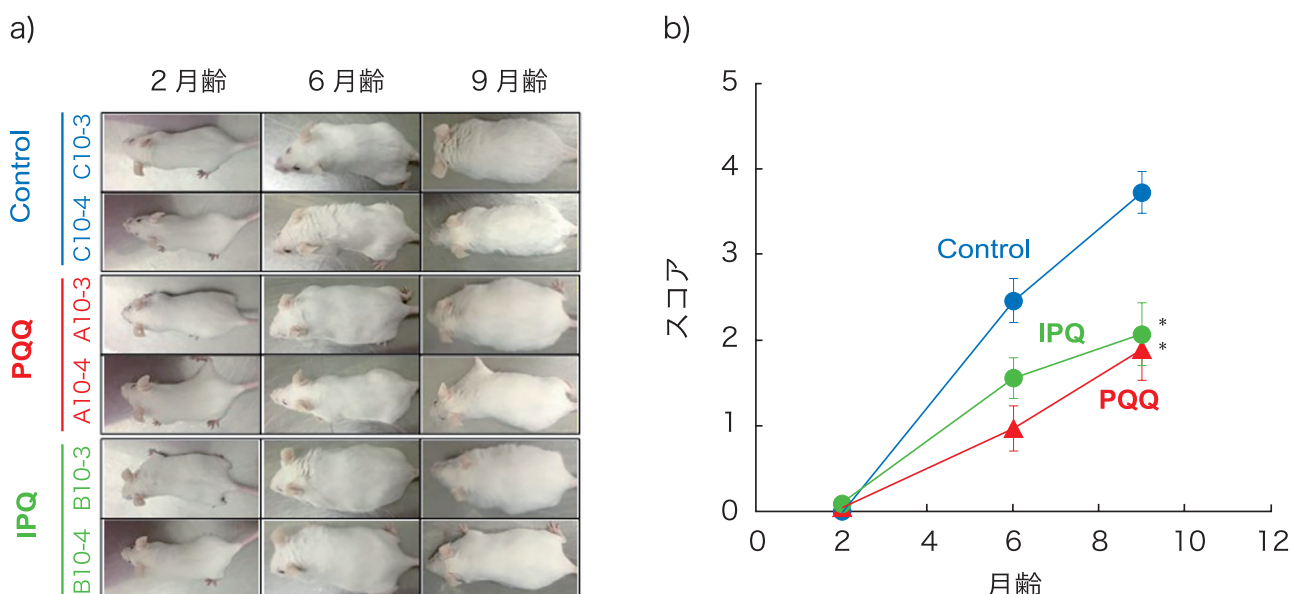


図3 PQQ と IPQ がマウスの見た目の老化速度に与える影響

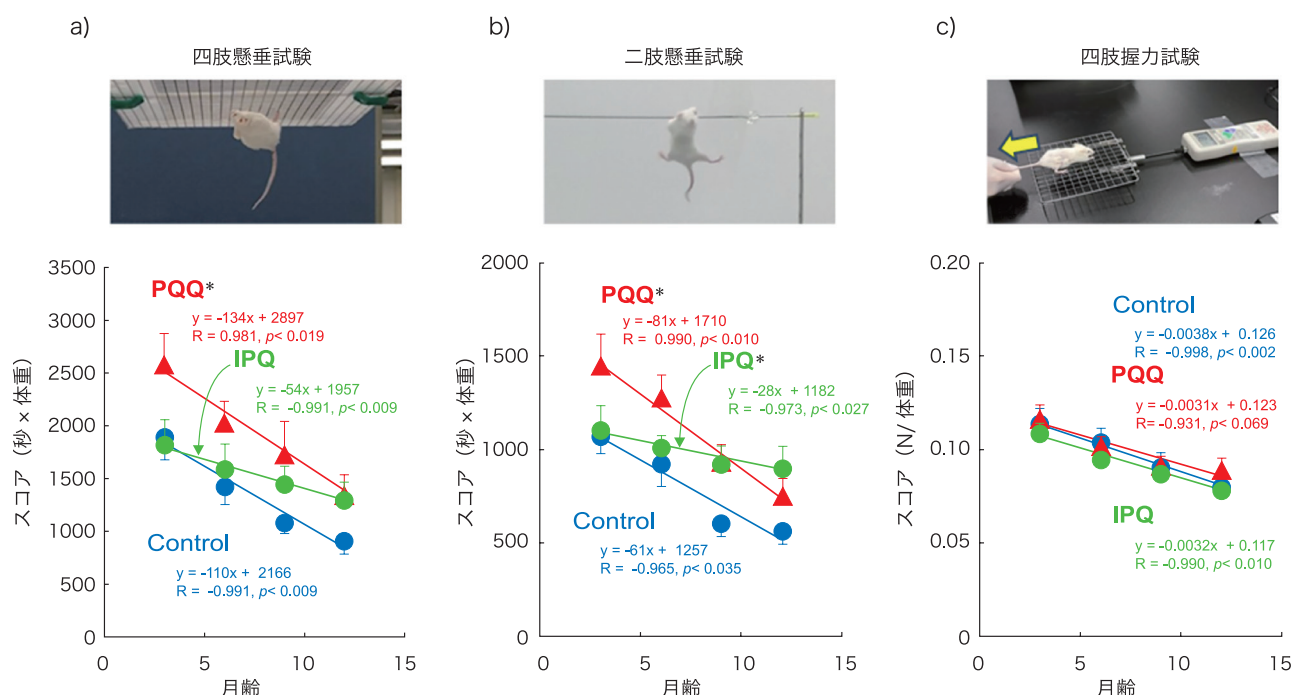


図4 PQQとIPQが加齢に伴う筋機能の変化に与える影響

化に関しては、若く見える人は長生きの傾向にあることが双子の研究で知られているが、本実験のマウスの実験結果ともよく一致していた。

5. 筋機能に与える影響

PQQおよびIPQ摂取が筋機能に与える影響は、四肢懸垂試験、二肢懸垂試験、および四肢握力試験により3ヶ月ごと（生後3, 6, 9, 12月齢）に評価した。

PQQ群の四肢懸垂試験の成績は、生後3ヶ月時点で、すでにコントロール群よりも高く、その後、コントロール群とほぼ同じ速度で加齢とともに低下した。IPQ群の場合は、生後3ヶ月時点ではコントロール群と成績に大きな差はなかったが、加齢に伴う低下速度は緩やかであった（図4a）。二肢懸垂試験の成績は、両群ともに四肢懸垂試験と同様の変化を示した（図4b）。PQQ群の成績は生後3ヶ月時点でコントロール群の約1.4倍であったが、その後、加齢に伴いコントロール群とほぼ同じ速度で低下した。IPQ群の加齢に伴う成績低下速度は、コントロール群の約半分であった。四肢握力試験では、3群すべてにおいて加齢に伴い成績が低下したが、群間差はなかった（図4c）。

このように懸垂試験においてPQQとIPQは、加齢に伴う筋機能の低下に与える影響が異なるが、ど

ちらの場合も高齢期にコントロール群よりも高い筋機能を維持していることが明らかになった。懸垂試験は、筋力、協調性、持久力を総合的に評価するものであり、げっ歯類の「神経筋機能」の評価に有用とされている。すなわち、PQQおよびIPQの生涯投与は、マウスの神経筋機能の改善に有効であることを示唆している。神経筋機能は、神経系と筋肉の協調的な活動である。脳からの信号は神経を介して筋肉に伝達され、全身の身体機能を可能にする。PQQおよびIPQは、様々なストレス因子から神経細胞を保護し、脳機能を改善する^{7,8)}。PQQおよびIPQによる神経筋機能の低下の遅延は、加齢に伴う神経系および神経筋接合部の機能障害に対する保護的作用によるものと考えられる。PQQおよびIPQが加齢に伴う神経筋機能の低下を予防する詳細なメカニズムを解明することは、今後の重要な課題である。また、PQQとIPQが筋機能の加齢に伴う変化に影響を与えるメカニズムは異なる可能性があり、この点も解明すべき課題である。

6. おわりに

本研究により、SAMP8マウスにおいて離乳後に開始したPQQおよびIPQの生涯にわたる摂取が、中年期の死亡リスクを低減し、見た目の老化速度を遅延させ、加齢に伴う筋機能低下の進行を遅ら

生涯にわたる PQQ および IPQ の摂取

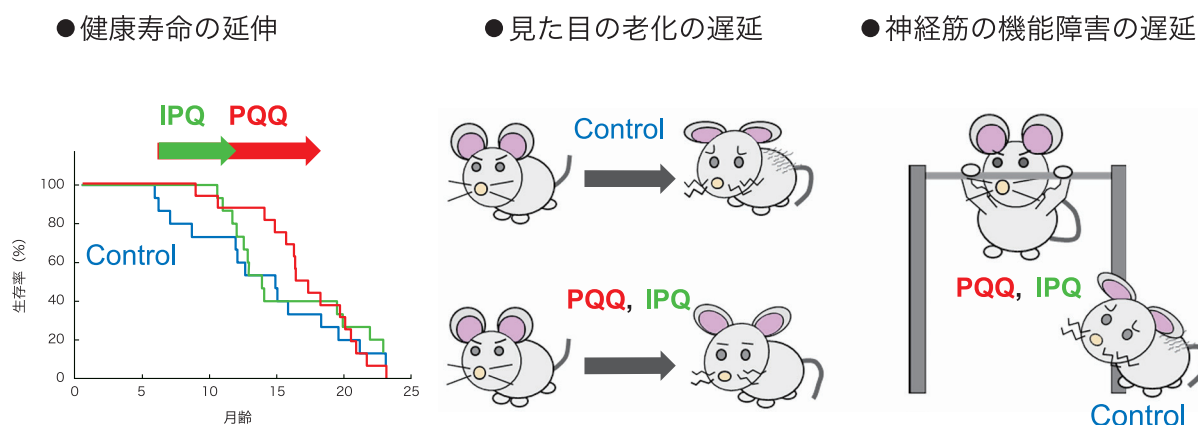


図5 PQQ と IPQ の生涯摂取がマウスの加齢変化に与える影響

せることが明らかになった (図5)。

近年, 老化の進行と慢性的な炎症との関係が注目されている。その背景には, 感染症などの明確な原因がない場合でも, 高齢者では炎症マーカーの血清レベルが高い状態であることが知られはじめたからである。この慢性炎症状態は炎症性老化 (inflammaging) として知られている¹⁵⁾。炎症性老化は, 組織全体に広範な全身性慢性炎症を引き起こし, 動脈硬化, サルコペニア, 虚弱, 認知機能障害などの様々な加齢関連疾患の発症を促進すると考えられている¹⁵⁾。この制御不能な炎症環境の主な原因はサイトカインとケモカインである。老化細胞や組織では, インターロイキン-6 (IL-6) や腫瘍壊死因子 (TNF- α) などの因子が活発に合成・分泌され, 周囲の正常細胞に作用して慢性炎症を誘発している。これは老化関連分泌表現型 (SASP) として知られる現象である。したがって, 炎症の抑制は抗老化の有望な手段のひとつと考えられている。PQQ 摂取による炎症反応の抑制は, 肥満ラット, マウス, 離乳子豚, およびヒトでも報告されている。我々の先行実験では, 高齢 C57BL/6J マウス (83 週齢) に PQQ 含有飼料 (0.02% w/w AIN-93M) を 2 か月間摂取させることにより, 筋機能が回復し, 筋肉中の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-1 β , TNF- α) の遺伝子発現レベルが有意に低下することが明らかになった¹²⁾。PQQ の抗炎症作用が生存率低下や筋機能低下の抑制に働いた可能性が考えられる。

一方, 抗老化研究は, 主に植物成分や微生物代

謝産物について古くから試されてきた。それらの物質の抗老化作用の評価には, 寿命が短く飼育が比較的容易な酵母や線虫 (*Caenorhabditis elegans*) が用いられている。その結果, いくつかの抗老化物質が見つかった。例えば, 線虫の寿命を延長する化合物としては, 植物由来成分のレスベラトロール, クルクミン, ケルセチン, オウギ多糖類, ジンセノサイドなど, 微生物産物のラパマイシン, 代謝中間体のニコチンアミドモノヌクレオチド, α -ケトグルタル酸, 薬剤のメトホルミンなどがある。しかし, 通常食飼育のマウスの寿命を延長する化合物は, メトホルミンとラパマイシンなどに限られる¹⁶⁾。レスベラトロールやクルクミンには, 線虫でみられた寿命延長効果はマウスでは認められていない¹⁷⁾。このように, 無脊椎動物で寿命延長効果があっても, マウスなどの哺乳類では効果がないことがしばしばある。最近, 20 種類の化合物の寿命延長効果の比較調査から, 線虫 *C. elegans* で寿命延長が認められてもマウスでは認められない場合が多いことが示された¹⁸⁾。本研究では, PQQ 摂取および IPQ 摂取が, SAMP8 マウスの生存曲線を右側に膨らませ, 75 パーセンタイル生存日数を有意に延長することが明らかになった。PQQ と IPQ は中年期の死亡リスクを低下させると共に, 健康寿命を延伸する可能性がある。

臨床研究では, PQQ 補給の潜在的な効果として, 心血管系の健康改善, 認知機能の向上, 体重管理, インスリン感受性の改善, メタボリックシンドローム

ムの予防などが示唆されている。今後の研究では、PQQの最適投与量を決定し、その長期的な有効性と安全性を評価することが重要となる。マウスにお

ける長期投与に関する我々の研究成果が、今後の臨床研究に基礎情報を提供するとともに、高齢期の生活の質の向上に寄与することを期待する。

備考

本論文は我々の研究成果 Food & Function (2026), DOI: 10.1039/d6fo00788k (オープンジャーナル, 無料) に掲載された内容を再編集した。

本研究で使用された PQQ (BioPQQ®) は三菱ガス化学株式会社で製造された。IPQ は三菱ガス化学株式会社新潟研究所で合成され提供された。

謝辞

本研究に対する三菱ガス化学株式会社からの全面的な資金援助に深く感謝いたします。データ分析に関して貴重なご助言をいただいた東邦大学の金子真隆教授に心より感謝申し上げます。外観老化度の評価にご協力いただいた日本 SLC 株式会社に感謝いたします。

参考文献

1. R. Takahashi: Anti-aging studies on the senescence accelerated mouse (SAM) strains, *YAKUGAKU ZASSHI*, **130**: 11-18, 2010.
2. M. Akagawa, M. Nakano and K. Ikemoto: Recent progress in studies on the health benefits of pyrroloquinoline quinone, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**: 13-22, 2016.
3. K. R. Jonscher, W. Chohanadisai and R. B. Rucker: Pyrroloquinoline-quinone is more than an antioxidant: A vitamin-like accessory factor important in health and disease prevention, *Biomolecules*, **11**: 1441, 2021.
4. M. Dong, X. Ming, T. Xiang, N. Feng, M. Zhang, X. Ye, Y. He, M. Zhou and Q. Wu: Recent research on the physicochemical properties and biological activities of quinones and their practical applications: A comprehensive review, *Food Funct.*, **15**: 8973-8997, 2024.
5. A. Ouchi, M. Nakano, S. Nagaoka and K. Mukai: Kinetic study of the antioxidant activity of pyrroloquinolinequinol (PQQH(2), a reduced form of pyrroloquinolinequinone) in micellar solution, *J. Agric. Food Chem.*, **57**: 450-456, 2009.
6. K. Saihara, R. Kamikubo, K. Ikemoto, K. Uchida and M. Akagawa: Pyrroloquinoline quinone, a redox-active o-quinone, stimulates mitochondrial biogenesis by activating the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway, *Biochemistry*, **56**: 6615-6625, 2017.
7. Y. Yamada, K. Nishii, K. Kuwata, M. Nakamichi, K. Nakanishi, *et al.*: Effects of pyrroloquinoline quinone and imidazole pyrroloquinoline on biological activities and neural functions, *Heliyon*, **6**: e03240, 2020.
8. M. Tamakoshi, T. Suzuki, E. Nishihara, S. Nakamura and K. Ikemoto: Pyrroloquinoline quinone disodium salt improves brain function in both younger and older adults, *Food Funct.*, **14**: 2496-2501, 2023.
9. T. Urakami, C. Yoshida, T. Akaike, H. Maeda, H. Nishigori, *et al.*: Synthesis of monoesters of pyrroloquinoline quinone and imidazopyrroloquinoline, and radical scavenging activities using electron spin resonance in vitro and pharmacological activity in vivo, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **43**: 19-33, 1997.
10. J. Killgore, C. Smidt, L. Duich, N. Romero-Chapman, D. Tinker, *et al.*: Nutritional importance of pyrroloquinoline quinone, *Science*, **245**: 850-852, 1989.
11. F. M. Steinberg, M. E. Gershwin and R. B. Rucker: Dietary pyrroloquinoline quinone: Growth and immune response in BALB/c mice, *J. Nutr.*, **124**: 744-753, 1994.
12. N. S. Mohamad Ishak, M. Kikuchi and K. Ikemoto: Dietary pyrroloquinoline quinone hinders aging progression in male mice and D-galactose-induced cells, *Front. Aging*, **5**: 1351860, 2024.
13. H. Sasakura, H. Moribe, M. Nakano, K. Ikemoto, K. Takeuchi, *et al.*: Lifespan extension by peroxidase and dual oxidase-mediated ROS signaling through pyrroloquinoline quinone in *C. elegans*, *J. Cell Sci.*, **130**: 2631-2643, 2017.
14. M. Hosokawa, R. Kasai, K. Higuchi, S. Takeshita, K. Shimizu, *et al.*: Grading score system: A method for evaluation of the degree of senescence in senescence accelerated mouse (SAM), *Mech. Ageing Dev.*, **26**: 91-102, 1984.
15. C. Franceschi, P. Garagnani, P. Parini, C. Giuliani and A. Santoro: Inflammaging: A new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases, *Nat. Rev. Endocrinol.*, **14**: 576-590, 2018.
16. R. A. Miller, D. E. Harrison, C. M. Astle, J. A. Baur, A. R. Boyd, *et al.*: Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice, *J. Gerontol., Ser. A*, **66**: 191-201, 2011.
17. R. Strong, R. A. Miller, C. M. Astle, J. A. Baur, R. de Cabo, *et al.*: Evaluation of resveratrol, green tea extract, curcumin, oxaloacetic acid, and medium-chain triglyceride oil on life span of genetically heterogeneous mice, *J. Gerontol., Ser. A*, **68**: 6-16, 2013.
18. M. Bene and A. B. Salmon: Testing the evidence that lifespan-extending compound interventions are conserved across laboratory animal model species, *Geroscience*, **45**: 1401-1409, 2023.

VO₂max を主要アウトカムとした 臨床試験は成立するか？

馬場 亜沙美 (BABA Asami)^{1*}, 鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)¹,
田中 瑞穂 (TANAKA Mizuho)¹, 山本 和雄 (YAMAMOTO Kazuo)¹

Key Words : ヒト臨床試験, 特定保健用食品, 機能性表示食品, VO₂max, 主要アウトカム

Is a clinical trial with VO₂max as the primary outcome feasible?

Authors: Asami Baba ^{1*}, Naoko Suzuki ¹, Mizuho Tanaka ¹, Kazuo Yamamoto ¹

Corresponding author: Asami Baba

Affiliated institutions:

¹ ORTHOMEDICO Inc.

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

Key Words: Human clinical trials, Foods for Specified Health Uses (FOSHU), Foods with Function Claims (FFC), VO₂max, Primary outcome (endpoint)

1. はじめに

ヒト臨床試験における主要アウトカムの設定は、その試験の「科学的価値」を決定づける核心である。一般に、死亡や再発といったハードエンドポイント、臨床症状スコア、あるいは特定のバイオマーカーなどが主要アウトカムとして選択される。

一方で、最大酸素摂取量 (VO₂max) や呼吸商 (Respiratory quotient; RQ) といった運動生理学的指標が、主要アウトカムとして採用される例は決して多くない。VO₂max は以下の式で定義される生理学的に明確な指標である。

$$VO_2 \text{ max (mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = \frac{\text{Absolute VO}_2 \text{ max (L} \cdot \text{min}^{-1}) \times 1000}{\text{Body weight (kg)}}$$

VO₂max は、明確な定義を持つ指標であるにもかかわらず、主要アウトカムとしては「測定値のばらつきが大きい」「統計解析や評価の難易度が高い」といった理由で敬遠されがちである。

そこで本稿では、VO₂max を主要アウトカムとして位置づけた稀有なランダム化比較試験である「Energy Balance and Breast Cancer Aspects-II (EBBA-II) 試験」の統計解析計画書 (SAP)¹⁾ を読み解きながら、以下の3点を整理・解説する。

- なぜ VO₂max が主要アウトカムとして成立し得たのか
- 臨床統計学的にどのように扱われているのか
- 今後の機能性表示食品における試験設計にどのような示唆を与えるのか

* 責任著者: 馬場 亜沙美 (Asami Baba)¹

所属機関: ¹ 株式会社オルトメディコ (東京都文京区小石川 1-4-1 住友不動産後楽園ビル 2 階)

表1 EBBA-II 試験の概要¹⁾

項目	内容
試験名	Energy Balance and Breast Cancer Aspects-II (EBBA-II)
試験登録	ClinicalTrials.gov (NCT02240836)
試験責任期間	Oslo University Hospital (ノルウェー)
試験デザイン	ランダム化, 評価者盲検, 並行群間比較, 優越性試験
割付	1:1 (層別因子: 閉経状態)
対象集団	新規診断乳がん患者 (術後補助療法中)
介入	12 か月間の運動プログラム
対照	標準治療 (身体活動の制限なし)
主要アウトカム	VO ₂ max のベースラインから 12 か月後までの変化量
評価時点	ベースライン, 6 か月, 12 か月 (+ 長期追跡: 2・3・5・10 年)

2. EBBA-II 試験とは？

EBBA-II 試験は、乳がんの術後補助療法を受ける患者を対象として、12 か月間の運動介入と標準治療を比較する、ランダム化評価者盲検並行群間比較試験である (表1)¹⁾。

本試験における介入の目的は、単なる体力向上にとどまらず、運動介入が心肺機能、代謝プロファイル、腫瘍微小環境に及ぼす影響を包括的に検証することにある。

3. VO₂max が主要アウトカムへ変更・採用された背景

興味深いことに、EBBA-II 試験において VO₂max は当初から主要アウトカムとして設定されていたわけではない。ClinicalTrials.gov への初期登録時点では、主要アウトカムとして以下の代謝プロファイル指標が設定されていた。

- 脂質・リポ蛋白
- 血糖
- 血圧
- 体組成
- インスリン
- 炎症・血栓関連マーカー

一方、VO₂max を含む心肺機能指標 (Cardiopulmonary exercise test; CPET) 関連指標は、副次的アウトカムとして位置づけられていた。しかし試験の進行とともに、乳がん補助療法中の患者において以下の2点が明確になった。

- 心肺機能の低下が臨床的に重要な問題であること
- 運動介入の直接的な効果を最も統合的に反映する

指標が VO₂max であること

その結果、多様な代謝指標を個別に評価するよりも、心肺機能の包括的指標である VO₂max の変化量を評価する方が、臨床的意義および解釈の一貫性に優れると判断された。この判断を受けて、データ固定前に以下の一連の手続きが実施された。

- 主要アウトカムを「VO₂max のベースラインから 12 か月後までの変化量」へ再定義
- 統計解析計画書 (SAP) の改訂
- ClinicalTrials.gov の登録内容の更新
- VO₂max を主要アウトカムとした統計的検出力および必要症例数の再計算

このプロセスは ICH E9 (臨床試験のための統計的原則) や CONSORT 声明の考え方に照らしても許容される、方法論的に正当な手続きである^{2,3)}。その根拠として以下の要素が満たされていることが挙げられる。

- データ固定前に変更が決定・文書化されていること
- SAP の改訂履歴および変更の医学的妥当性が明示されていること
- 主要アウトカム変更に伴い、検出力・必要症例数の再計算が適切に行われていること

【ポイント】

EBBA-II 試験のプロセスから学べるのは、代謝指標 (脂質・血糖など) が運動介入の「間接的結果」であるのに対し、VO₂max は運動介入の「直接的かつ統合的な効果」であると再整理された点である。これは機能性表示食品の臨床試験設計にも重要な示唆を与える。食品の作用機序がエネルギー代謝や運

動耐容能に関与する場合、複数の代謝マーカーを個別に追うよりも、VO₂max を主要アウトカムに据える方が、介入の直接的な有効性を高感度かつ包括的に捉える指標となり得る。

4. EBBA-II 試験で VO₂max はどのように解析されたか？

4-1. 主要アウトカムの定義

EBBA-II 試験における主要アウトカムは、「VO₂max のベースラインから 12 か月後までの変化量」を連続変数として評価すると定義されている。VO₂max を連続変数として扱うことで、以下の統計学的・臨床的な利点が確保される。

- 生理学的情報量を最大限に保持できる
- 二値化に伴う統計的検出力の低下を回避できる
- 介入による群間差の大きさを定量的に解釈可能となる

4-2. 統計モデルの設計思想

EBBA-II 試験の主解析には、線形混合モデル (Linear Mixed Model) が用いられている。これは、VO₂max が縦断的に繰り返し測定される連続指標であることを前提とした設計である。本モデルには表 2 の固定効果が含まれている。

また、ランダム効果 (Random effects) として、被験者ごとのランダム切片が導入されている。これにより、被験者間のベースライン VO₂max のばらつきと、同一被験者内での測定値相関が適切にモデル化されている。

さらに、本解析では、時間を「6 か月」を結節点 (Knot) とする区分線形モデル (Piecewise Linear Model) として組み込んでおり、介入初期 (0~6 か月) と介入後期 (6~12 か月) で異なる変化勾配を許容する設計となっている。これは、運動介入による心肺機能の変化率が一定ではないという生理学的背景を反映した、合理的な仮定である。

4-3. 解析設計の統計的意義

この解析設計により、以下の利点が得られる。

- 欠測データを含む縦断データを自然に

扱える

- 全ランダム化症例を解析に含める modified Intention to Treat 原則を維持できる
- 中間時点 (6 か月) の情報もパラメータ推定に活用できるため、推定効率が高い

これは、いわゆる Mixed Model for Repeated Measures (MMRM) や constrained longitudinal data analysis (cLDA) に近い形である。

4-4. VO₂max を主要アウトカムとしたサンプルサイズ設計

SAP においては、統計的検出力を担保するため表 3 の仮定が明示されている。

この前提に基づき、1 群あたり約 253 例で 80% の検出力が確保できると算定され、1 群あたり約 300 例という目標症例数が設定された (300 例時の検出力を逆算すると 86%)。

【重要な示唆】

VO₂max の標準化効果量は決して大きくない。しかし、二値化せず連続変数として扱い、縦断情報を最大限活用する線形混合モデルを用いることで、現実的な症例数で検証可能な設計が成立している。これは、VO₂max は「ばらつきが大きいから主要アウトカムにできない」のではなく、「適切なモデルと設計を前提にすれば成立する」ことを示している。

表 2 主解析に用いた線形混合モデルの固定効果¹⁾

固定効果	内容
群	運動介入群 vs 標準治療群
時点	0, 6, 12 か月
群×時点の交互作用	介入効果の時間的推移を評価
閉経状態	ランダム化時の層別因子 (閉経前 / 閉経後)

表 3 VO₂max を主要アウトカムとしたサンプルサイズ設計の前提条件¹⁾

設計パラメータ	設定値
ベースライン VO ₂ max (両群平均)	約 32 mL/kg/min
運動介入群の変化量	0 (変化なし)
標準治療群の変化量	- 0.5 mL/kg/min (低下)
群間差	0.5 mL/kg/min
変化量の標準偏差	2.0
有意水準	両側 5%
検出力	80~86%
目標症例数	1 群あたり約 300 例

5. 呼吸商 (RQ) はなぜ主要アウトカムに採用されなかったのか？

EBBA-II 試験では、RQ も測定されているが、あくまで副次的・探索的アウトカムという位置づけに留まっている。RQ はエネルギー基質の燃焼比率(糖質と脂質の利用割合)を示す生理学的に重要な指標であるが、以下の要因による影響を強く受ける。

- 測定直近の食事内容
- 測定時の環境条件や心理的緊張
- 測定直前の身体活動量

これらの変動要因が存在するため、RQ は VO₂max と比較して日内・日差変動が大きく、臨床的意義の解釈が曖昧になりやすい。すなわち、長期間の介入効果を評価する上で不可欠な再現性が担保しにくいいため、主要アウトカムとしては不適格であると判断されたと考えられる。

この RQ と VO₂max の対比は、ヒト臨床試験において「何を主要アウトカムに据えるべきか」を考えるうえで重要な視点を提供している。

6. 機能性表示食品の臨床試験への示唆

EBBA-II 試験は乳がん術後患者を対象とした研究であり、疾病に罹患していない健常者(あるいは境界域の者)を対象とする機能性表示食品のヒト臨床試験とは前提となる集団が異なる。しかし、VO₂max を主要アウトカムとして成立させた数少ない成功例として、今後の試験設計に以下の示唆を与えている。

- ① VO₂max は「条件付きで」主要アウトカムとして成立する

EBBA-II 試験のプロセスから、VO₂max を主要アウトカムに据えるためには、少なくとも以下の3条件を試験計画段階で満たす必要があると考えられる。

- 対象集団において、心肺機能の維持・向上が明確な健康課題となっていること
- 介入がエネルギー代謝や心肺機能の改善と直接的に結びつく科学的合理性を有すること
- 統計解析計画において、連続変数としての縦断的評価や線形混合モデルの適用が前提とされていること

これらの条件が厳密に設計・文書化されていれば、VO₂max は単なる参考値ではなく、主要アウトカムとして十分に機能し得る。

- ②機能性表示食品の試験設計で VO₂max が敬遠される理由とその突破口

一方で、機能性表示食品の届出を企図したヒト臨床試験において、VO₂max が副次的アウトカムに留まりやすい理由も、EBBA-II 試験との対比から明確になった。主な障壁は以下の2点である。

- 自覚症状や健康イベントとの直接的関連の弱さ：日常生活における「疲れにくさ」や「身体活動量の維持」といった主観的指標と、VO₂max の変動をどう関連づけるかが課題となる。
- 「臨床的意義」の説明の難しさ：VO₂max の微小な数値改善が、健常者の健康にどのようなベネフィットをもたらすのか、消費者庁の手引き等に沿った明確なロジック構築が求められる。

総じて、機能性表示食品のヒト臨床試験において VO₂max を評価項目として活用するには、単なる「測定項目の追加」ではなく、成分の作用機序の立証から適切な解析モデルの選定に至るまで、科学的かつ一貫したストーリー構築が不可欠であると言える。

7. まとめ

本稿では、VO₂max を主要アウトカムとして正式に採用した稀有なランダム化比較試験である「EBBA-II 試験」を題材に、「VO₂max は主要アウトカムとして成立し得るのか？」という問いについて検討してきた。

EBBA-II 試験の最大の特徴は、VO₂max を主要アウトカムとして「選んだ」という結果そのものではなく、その選択に至るプロセスの妥当性と、それを支える統計解析計画が極めて精緻であった点にある。試験開始当初は代謝プロファイルが主要アウトカムとして想定されていたが、試験進行に伴う医学的再評価を経て、VO₂max が介入の直接的かつ統合的な効果を示す主要な関心変数として再定義された。この変更は、データ固定前に実施され、SAP 改訂および必要症例数の再計算を伴う、ICH E9 等のガイドラインに準拠した正当な手続きとして行われている。

さらに、特筆すべきは、その解析手法である。VO₂max は連続変数として扱われ、縦断データを前提とした線形混合モデル（MMRM に準じる設計）を適用することで、効果量がさほど大きくないという前提においても、現実的なサンプルサイズで十分に検証可能な臨床試験デザインが構築されていた。

EBBA-II 試験は乳がん術後患者を対象とした研究であり、その結果や設定をそのまま機能性表示食品などの健常者を対象としたヒト臨床試験に適用できるわけではない。しかし、介入の作用機序とアウトカムの論理的対応、多指標評価と単一統合指標のト

レードオフ、そして主要アウトカムとして成立させるための統計学的要件という観点において、臨床研究者および試験計画立案者に強力な参照枠組みを提供している。

結論として、VO₂max はどのような試験にも適合する万能な主要アウトカムではない。しかし、対象集団における臨床的文脈、介入成分の合理的な作用機序、そして縦断的データ解析を前提とした堅牢な統計設計という3条件が満たされれば、主要アウトカムとして十分に成立し得る指標であることを、EBBA-II 試験は示している。

参考文献

1. Energy Balance and Breast Cancer Aspects (EBBA-II). ClinicalTrials.gov identifier: NCT02240836. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02240836> (Accessed 2026-06-9).
2. 厚生労働省: ICH E9 臨床試験のための統計的原則 (2026 年 6 月 9 日アクセス可能 : <https://www.pmda.go.jp/files/000156112.pdf>)
3. Sally Hopewell, An-Wen Chan, Gary S Collins, Asbjørn Hróbjartsson, David Moher et al: CONSORT 2025 explanation and elaboration: updated guideline for reporting randomised trials. *BMJ* **389**: e081124, 2025 (DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj-2024-081124>)

論文作成支援講座

機能性表示食品の届出を見据えた論文執筆 ~Part 3~

馬場 亜沙美 (BABA Asami)^{1*}, 鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)¹,
田中 瑞穂 (TANAKA Mizuho)¹, 山本 和雄 (YAMAMOTO Kazuo)¹

Key Words : 保健機能食品, 機能性表示食品, 届出, 行政対応支援, ヒト臨床試験, 論文執筆支援

From Clinical Evidence to Functional Claims

Strategic Scientific Writing for Foods with Function Claims Notification ~Part 3~

Authors: Asami Baba^{1*}, Naoko Suzuki¹, Mizuho Tanaka¹, Kazuo Yamamoto¹

***Correspondence author:** Asami Baba

Keywords: Health Functional Foods, Foods with Function Claims (FFC), Regulatory notification support, Regulatory affairs support, Human clinical study, Scientific manuscript preparation support

Affiliated institution:

¹ ORTHOMEDICO Inc.

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

はじめに

機能性表示食品制度は、事業者の責任において科学的根拠に基づく機能性を表示することを可能とする制度である。そのため、届出に際しては、表示内容を裏付ける十分な科学的根拠の整備が不可欠となる。具体的には、最終製品または機能性関与成分に関する先行研究を網羅的に収集・評価したシステムティックレビュー、もしくは最終製品を用いたヒト試験の査読付き論文を、科学的根拠として提示する必要がある。特に最終製品を用いたヒト試験の場合、届出者がその研究計画、実施、解析および報告の妥当性を客観的に証明する必要がある、手引きへの適合性が厳しく確認される。

近年、届出件数の増加や制度改正に伴い、科学的根拠として提出される論文がガイドラインに規定された報告基準（CONSORT 声明など）を満たしているか、消費者庁による確認の目は非常に厳しくなっている。制度上、科学的妥当性の担保はあくまで「事業者の自己責任」であるが、論文内の記述の曖昧さや論理の飛躍が原因で、要件未充足として差し戻しとなるケースも少なくない。したがって、制度要件を満たすのみならず、学術的にも信頼性の高い論文を作成することが、企業にとって重要な課題となっている。

Part 1 では機能性表示食品の届出を見据えたヒト試験論文の作成に焦点を当て、投稿先の選定から執

*** 責任著者:** 馬場 亜沙美 (Asami Baba)

所属機関:

¹ 株式会社オルトメディコ

〒112-0002 東京都文京区小石川 1-4-1 住友不動産後楽園ビル 2 階

筆上の具体的留意点までを体系的に解説した。Part 2では論文の構成に関する具体的留意点について解説した。Part 3である本稿では、論文を構成するセンテンスに焦点を当て、簡潔で無駄のない文章を作成する手法と、曖昧な表現を回避して文法構造を明確化するための留意点について解説する。

第1章 簡潔で無駄のないセンテンスの構成

論文において、センテンスの内容を簡潔にまとめ、要点を明確に伝えることは極めて重要である。機能性表示食品の届出根拠となる論文では、記述の冗長性が論理の曖昧さを生み、結果として手引きへの適合性の確認を難航させる原因になりかねない。そのためには、冗長な表現を極力排除し、最小限の言葉で表現することが求められる。

1-1. センテンス作成における基本的な留意点

要点を明確に伝えるための留意点として、主に以下の4点が挙げられる。

第一に、具体性のある言葉を使用することである。一般的な事項や抽象的な言葉の使用を避け、速やかに本質的で具体的な情報（対象者の特性や摂取条件など）を提示することが求められる。

第二に、著者主体の記述を避けることである。「We」を主語とした表現を推奨していない学術誌も存在するため、投稿規定等の事前確認が必要である。客観的な事実を記述するヒト試験論文では、原則としてデータや事象を主語とした客観的な記述（三人称）を基本とする。

第三に、図表から読み取れる情報について、本文中で重複して説明しないことである。結果(Results)セクションなどで、図表の数値を本文で逐一再説することは避け、本文では臨床的な意味を持つ重要な要点だけに言及する構成が望ましい。

第四に、常識的な情報の記載はできるだけ避けることである。ターゲットとする読者や査読者が既に知っている背景情報の過度な記載は、必要な重要情報の読み飛ばしを招く恐れがあるため、序論(Introduction)等でも必要最小限に留めるべきである。

1-2. 簡潔な表現を構築するための文法的手法

無駄のないセンテンスを構築するための文法的手法として、主に以下の4点が挙げられる。

第一に、副詞形の活用による語数削減である。形容詞と総称的名詞を併用するよりも、その形容詞の副詞形を用いることで、文章をスマートにできる。

修正前) The evaluation was performed in an accurate way.

修正後) The evaluation was performed accurately.

第二に、不要な接続語句や導入語句を使用しないことである。論旨の展開が論理的かつ明快であれば、文頭の不要な導入語句を除いても読者は文章の内容を理解することができる。

例) As a matter of fact, …

例) The results of this work may be synthesized as follows. …

第三に、形式主語(It構文)を用いた構文を避けることである。形式主語では真主語の導入が遅れるため、重要な情報がセンテンスの後半に回り、強調したいポイントが曖昧になる恐れがある。そのため、助動詞や能動態を利用して言い回しを変えることが重要である。

修正前) It is necessary to measure TEWL under controlled conditions.

修正後) TEWL must be measured under controlled conditions.

第四に、名詞よりも動詞を使って表現することである。英語には多くの動詞に対応する名詞形(例: measurement, calculation)が存在するが、語数を削減する観点からは、動詞形(例: measure, calculate)を用いる方が適切である。

また、動詞の名詞形を1つの動詞へ集約することにより、効果的に語数を削減することができる。

修正前) Group A showed a better performance than Group B.

修正後) Group A performed better than Group B.

第2章 曖昧な表現の回避と文法構造の明確化

論文における記述の曖昧さは、読者やジャーナル

の査読者の理解を妨げるだけでなく、機能性表示食品の届出実務において「科学的根拠の妥当性が疑われる（要件未充足による差し戻し）」という致命的なリスクを招く大きな要因となる。

2-1. 代名詞および同義語による曖昧さの回避

論文における記述の曖昧さを排除するためには、代名詞や同義語の運用に細心の注意を払う必要がある。具体的な手法として、以下の3点が挙げられる。

第一に、指示対象を明らかにすることである。英語には名詞の性・格による区別がないため、代名詞の多用は指す内容の誤解を招く恐れがある。指示対象が少しでも不明瞭になる恐れがある場合は、代名詞を具体的な名詞へと置換し、対象を明確化すべきである。

修正前) I put the book in the car and then I left it there.

修正後) I put the book in the car and then I left the book.

第二に、キーワードを同義語で置き換えないことである。論文の根幹をなす「機能性関与成分名」や「評価指標」などのキーワードを安易に同義語で言い換えると、同一の概念・物質であると認識できなくなる。表現の多様化は、キーワード以外の形容詞や動詞に限定し、核心的な名詞は全編を通して完全に統一することが鉄則である。なお、前置詞はそれぞれ固有の意味を持つため、語彙の重複を避ける目的で無理に同義語を探す必要はない。文法的に正確であれば、同一の前置詞が連続して使用されても論理性に影響を及ぼすことはない。

2-2. 正確で明快な用語の選定

読者に対して正確に情報を伝達するためには、用語の選定に客観性と具体性を持たせることが重要である。主に以下の3点が挙げられる。

第一に、専門用語には具体的な説明を添えることである。高度な専門用語の羅列は、論旨の把握を困難にする。学術的な正確性を保ちつつも、必要に応じて一般的な読者にも理解しやすい具体的な説明（あるいは言い換え）を文中で補足することが望ま

しい。

修正前) The homophily among humans introduces ...

修正後) The tendency of individuals to associate and bond with similar people introduces ...

第二に、抽象的な表現を具体化することである。著者にとっては自明な内容であっても、読者が同じ解釈をするとは限らない。試験環境や測定条件を曖昧にせず、具体的な数値や項目を示す必要がある。

修正前) Climatic conditions were also checked.

修正後) Temperature and rainfall were also checked.

第三に、主観的・相対的な表現を排除することである。程度を示す形容詞や副詞は、読者の主観によって解釈が異なる可能性があるため、客観性が求められる論文では使用を避けるべきである。そのため、「appropriate」「quite」「relatively」などの曖昧な表現ではなく、具体的な数値や基準を用いて記述することが重要である。

2-3. 語順および記号による修飾関係の明確化

文中における単語の配置や記号の使用は、修飾関係（どの単語がどの単語を説明しているのか）を明確にする上で重要な役割を果たす。単語間の関連性を適切に示すためには、主に以下の2点に留意する必要がある。

第一に、修飾語と被修飾語を近接させることである。連続して配置された単語は互いに関連していると解釈されやすいため、語順が不適切だと読者の誤解を招く。文末まで読まなければ意味関係が理解できない構成を避け、修飾関係や因果関係が直ちに把握できる語順へと整理することが望ましい。

修正前) To obtain red colors, insects and plant roots were used by indigenous people.

修正後) Insects and plant roots were used to obtain red colors.

第二に、句読点やハイフンを用いて意味を明確にすることである。文意に複数の解釈の可能性がある場合、これらの記号によって単語間の関連性や修飾関係を明確に示すことで、読者の誤解を防ぐことができる。

修正前) I have a little used car in the garage.

修正後) I have a little-used car in the garage.

2-4. 関係代名詞の適切な運用と文の分割

関係代名詞は、先行詞との対応関係が明確になるよう配置することが求められる。特に、先行詞との距離が離れすぎると修飾関係が不明瞭になり、読者の理解を妨げる可能性がある。論理的で明確な記述を実現するためには、主に以下の2点に留意する。

第一に、制限用法と非制限用法を適切に使い分けることである。先行詞を限定・特定する制限用法では、関係代名詞に「that」を用い、すでに特定された対象に補足情報を付加する非制限用法ではコンマを伴い「which」や「who」を用いる。

制限用法の例) My sister that lives in Paris is a teacher.

非制限用法の例) I have a son, who lives in Tokyo.

第二に、先行詞と関係節を近接させる、あるいは文を分割することである。関係代名詞は原則として直前の名詞を修飾するため、先行詞と関係代名詞節が離れすぎると、修飾対象の取り違えが生じる。語順を調整するとともに、必要に応じて一文を短く分割することが重要である。

修正前) Each event is characterized by a set of parameters, as reported in Table 1, which describes...

修正後) Each event is characterized by a set of parameters, as reported in Table 1.
This set describes ...

2-5. 動詞-ing形における修飾関係の明確化

動詞の-ing形（現在分詞や分詞構文）は、文中での配置によって修飾対象が不明瞭になりやすい。そのため、どの語句を修飾しているのかが明確になるよう、語順や文構造に注意して記述する必要がある。特に、修飾対象との近接性を保つことや必要に応じて文構造を再構成することが重要である。主な留意点として、以下の2点が挙げられる。

第一に、文構造を変更して修飾関係を明確にすることである。-ing形による表現が曖昧さを生じさせ

る場合には、接続詞や前置詞を用いて語句間の関係を明示することが有効である。

修正前) Mr. Li teaches the students having a good level of English.

修正後) Mr. Li teaches the students since he has a good level of English.

第二に、接続詞や前置詞を用いて論理関係を明示することである。-ing形による修飾関係が不明瞭となる場合には、「since」「because」「by」「thus」「and」などの接続詞や前置詞を用いて語句間の関係を明示することが有効である。また、能動態への書き換えや文の分割によって文構造を単純化し、文意を明確にすることもできる。そのため、-ing形による表現に固執せず、読者が論理関係を容易に理解できる文章を構成することが重要である。

2-6. 不可算名詞の処理と冠詞・代名詞の適切な選定

不可算名詞（物質名、抽象概念など）には可算名詞とは異なる文法規則が適用されるため、その特性を理解した上で適切に使用する必要がある。主な留意点として、以下の2点が挙げられる。

第一に、不可算名詞に対応する代名詞や数量表現を適切に選択することである。不可算名詞（例：blood, information, lipid ※文脈による）を受ける動詞は原則として単数形となる。そのため、既出の不可算名詞を再び参照する際、複数形の代名詞（them など）や可算名詞に用いる数量形容詞（many など）を使用しないよう注意する必要がある。代名詞の使用によって指示対象が不明確になる場合には、名詞を省略せずに繰り返して記述することが有効である。

第二に、冠詞および所有代名詞によって研究対象や研究主体を明確に示すことである。冠詞や所有代名詞の違いは、読者が文中の対象をどのように解釈するかに大きく影響する。特に作用機序の考察において、他社の先行研究と自社の本試験データの混同を防ぐために不可欠な技術である。

例 1) The study revealed that X can cause cancer.
(※既出の特定の研究を指す)

例 2) One study revealed that X can cause cancer.

(※先行研究など、複数存在する研究のうちの1つを指す)

例3) Our study revealed that X can cause cancer.

(※著者ら自身の研究を指す)

2-7. 既出情報の取り扱い

前述または後述した内容に言及する際には、参照対象を明確に示すことが重要である。曖昧な指示表現を用いると、読者が何を指しているのか判断できず、理解を妨げる。主な留意点として、以下の2点が挙げられる。

第一に、指示表現を具体的な語句へ置き換えることである。「the former」や「the latter」などの指示表現は、参照対象との距離が離れるほど解釈が困難になる。可能な限り対象となる用語（機能性関与成分名や評価指標など）を繰り返し記述し、何を指しているのかを明確に示すことが望ましい。

第二に、参照箇所を明示することである。「as mentioned above」や「before」などの曖昧な参照表現は、読者が該当箇所を特定しにくい。参照箇所を明確にすることで、読者は必要な情報へ容易にアクセスでき、内容を正確に理解しやすくなる。

修正前) … as mentioned above. / … as described before.

修正後) … as described in Section 1.1. / … as reported in Table 2.

2-8. 難解な表現の使用に関する留意点

学術論文では正確な表現が求められる一方で、難解な語句や誤解を招きやすい表現の使用は、読者の理解を妨げる要因となる。そのため、専門性と可読性の両立を意識することが重要である。また、類似した語句や綴りの近い単語の誤用は文意の変化につながるため、細心の注意を払う必要がある。主な留意点として、以下の3点が挙げられる。

第一に、難解な慣用表現（ラテン語由来など）を平易な英語表現へ置き換えることである。「i.e.」

「e.g.」「a priori」などの表現は学術文献で広く用いられているものの、過度な使用は可読性を下げる恐れがある。投稿先の分野や読者層を考慮し、必要に応じて「that is」や「for example」などの平易な英語表現へ置き換えることが望ましい。

第二に、類似語の意味を正確に区別することである。綴りや発音が類似していても、意味や用法が異なる単語は少なくない。例えば、「alternately」と「alternatively」、「sensible」と「sensitive」は意味が大きく異なる。そのため、単語の印象だけで選択するのではなく、文脈に適した語を正確に用いる必要がある。

第三に、綴りの誤りによる意味の変化に注意することである。一文字の違いであっても、全く異なる意味を持つ単語となる場合がある(例: effect (名詞) と affect (動詞) の混同など)。スペルミスは単なる表記上の問題ではなく、文意の誤解やデータに対する信頼性の低下につながる可能性がある。また、スペルチェック機能だけに頼らず、著者自身や共著者による確認に加え、専門的な英文校閲を必ず挟むべきである。

おわりに

本稿では、機能性表示食品の届出を見据えた論文作成を念頭に、センテンスを簡潔にまとめ、曖昧さを排除するための具体的な文法的なテクニックや留意点について概説した。不要な言葉や冗長な表現を避け、動詞や文構造の最適化を図ることで、文章を「短く、かつ正確に」まとめることが極めて重要である。学術論文は、単にデータを提示するだけでなく、読者や査読者に正確かつ効率的に理解される構造を備えて初めて、その価値を十分に発揮する。本稿で解説したポイントを日々の執筆実務に浸透させ、ジャーナルへの早期採択と、その先にある届出の円滑な受理（製品の上市）を両立させる、確固たるエビデンス構築の一助としていただければ幸いである。

Standardized *Cordyceps sinensis* Extract Attenuates LPS-Induced Acute Lung Injury and Enhances Antiviral T-Cell Responses in Influenza A (H1N1)-Infected Mice

Yeunhwa Gu^{1*}, Takenori Yamashita² and Tota Inoue³

*Corresponding author: Yeunhwa Gu¹

Affiliated institutions:

¹ Graduate School of Health Science, Junshin Gakuen University

[1 Chikushioka, Minami-ku, Fukuoka, Fukuoka 815-8510, Japan 1-1 TEL: 092-554-1255 Email: gu.y@junshin-u.ac.jp]

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

³ Mie breathing swallowing rehabilitation clinic

Abstract

Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are severe inflammatory lung disorders frequently triggered by influenza virus infection. Safe adjunctive strategies using standardized natural products are of growing interest. This study investigated the protective and immunomodulatory effects of a standardized hot-water extract of *Cordyceps sinensis* mycelia (Lot NK-2023-0823) in lipopolysaccharide (LPS)-induced ALI and influenza A/PR8 (H1N1) infection models.

Male BALB/c mice ($n = 10$ per group) received oral administration of *C. sinensis* extract (250 mg/kg/day) for 14 days before LPS (10 µg/mouse, intranasal) or H1N1 infection (1×10^4 PFU, intranasal). Airway hyperresponsiveness, lung histopathology, survival, cytokine production (TNF- α , IL-6, MCP-1; ELISA), viral load (RT-PCR), and CD4⁺/CD8⁺ T-cell subsets (flow cytometry) were evaluated. Data normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. Differences among groups were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey’s post hoc test. Survival was analyzed using Kaplan–Meier curves with log-rank testing.

In vitro antiviral analysis showed marked inhibition of H1N1 replication, with viral inactivation reaching 82.38% ($173 \times 10^4 / 210 \times 10^4$) in the *C. sinensis*-treated group compared with 0% in the influenza control. *In vivo*, pretreatment significantly reduced TNF- α , IL-6, and MCP-1 levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid, attenuated airway hyperresponsiveness, and improved lung histopathology. CD4⁺ and CD8⁺ T-cell frequencies were significantly increased versus influenza controls ($p < 0.05$). Survival was significantly prolonged in treated mice (log-rank $p < 0.05$).

Standardized *Cordyceps sinensis* extract attenuates inflammatory cytokine production, enhances antiviral T-cell responses, and improves survival in influenza-associated ALI, suggesting potential as a functional food-derived adjunct for respiratory viral injury.

Key Words: *Cordyceps sinensis*, Influenza, Acute lung injury, IL-6, TNF- α

1. Introduction

Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are severe inflammatory lung disorders characterized by diffuse alveolar damage, increased alveolar–capillary permeability, pulmonary edema, and impaired gas exchange.

Excessive activation of innate immune responses plays a central role in disease progression. Following exposure to pathogens or endotoxins such as lipopolysaccharide (LPS), alveolar macrophages release proinflammatory cytokines including tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin (IL)-6, which promote neutrophil recruitment and activation, leading to oxidative stress and tissue destruction¹⁻³. Dysregulation of Toll-like receptor signaling pathways has been implicated as a critical mechanism underlying inflammatory amplification in ALI³.

Influenza A virus infection is a major infectious cause of ALI and ARDS. Severe H1N1 influenza can induce diffuse alveolar damage and respiratory failure through excessive inflammatory and immune responses⁴⁻⁵. Adaptive immunity plays a dual role in this process. CD4⁺ T helper cells coordinate antiviral immune responses, whereas CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes eliminate virus-infected cells and contribute to viral clearance. However, imbalance between antiviral defense and immunopathology may exacerbate lung injury⁴. In addition, the renin–angiotensin system and ACE2-related pathways have been implicated in the pathophysiology of viral-induced lung injury and inflammatory lung diseases⁶⁻⁸.

Cordyceps sinensis, a medicinal fungus widely used in East Asian traditional medicine, contains bioactive compounds including polysaccharides, cordycepin, and nucleosides that exert immunomodulatory and anti-inflammatory effects. Previous studies demonstrated that *C. sinensis* attenuates cytokine production and improves lung histopathology in LPS-induced ALI models¹. Moreover, β -glucan-containing preparations have been shown to enhance systemic immunity and antitumor responses, supporting their role as immune-modulating functional food components⁹⁻¹⁰. Fractionated mushroom-derived polysaccharides have also been reported to exert biological activity through immune regulation¹¹.

Despite accumulating evidence supporting the anti-inflammatory properties of *C. sinensis*, limited studies have evaluated its effects simultaneously in endotoxin-induced ALI and influenza A virus infection within a unified experimental framework. In particular, the influence of *C. sinensis* on CD4⁺ and CD8⁺ T-cell responses during virus-associated lung injury remains insufficiently defined.

Therefore, the present study aimed to investigate whether oral administration of a standardized *C. sinensis* extract attenuates lung injury in LPS-induced ALI and influenza A (H1N1) infection models, focusing on inflammatory cytokine production, lung histopathology, airway hyperresponsiveness, and modulation of CD4⁺ and CD8⁺ T-cell responses.

2. Materials and Methods

2-1. Animals

Male BALB/c mice (5 weeks old, 18–20 g) were purchased from Japan SLC, Inc. (Shizuoka, Japan).

All experiments were conducted exclusively using BALB/c mice to ensure strain consistency across all *in vivo* analyses.

Mice were housed under controlled environmental conditions (22 $\pm$ 2°C, 50 $\pm$ 10% humidity, 12-h light/dark cycle) with ad libitum access to irradiated standard rodent diet (Altromin 1324 TFP) and sterile water. After one week of acclimatization, mice were randomly assigned to experimental groups.

All procedures were approved by the Suzuka University of Medical Science Animal Ethics Committee (Approval No. 24/1023/17) and conducted in accordance with the Japanese Animal Welfare Act (2017 revision).

Sample Size

Each experimental group consisted of $n = 10$ mice, determined based on previous power calculations and published ALI models (Imai, *et al.*: Cell 2008; Senkova, *et al.*: *Acta Naturae* 2024).

- Survival analysis: $n = 10$ /group
- Cytokine measurements: $n = 10$ /group
- Flow cytometry: $n = 10$ /group
- Histology: $n = 10$ /group

2-2. Preparation and Chemical Characterization of *Cordyceps sinensis* Extract

A standardized hot-water extract of cultured *Cordyceps sinensis* mycelia (NKG–Japanese NIHON KEFIA®, Nihon Kefia Co., Ltd., Tokyo, Japan; Lot NK-2023-0823) was used.

Extraction Procedure

Dried mycelia were extracted in distilled water at 95°C for 3 h, filtered, concentrated, and lyophilized.

Chemical Standardization

To comply with JMF botanical reporting requirements, the extract was chemically characterized as follows:

- Total polysaccharide content: 38.6% (w/w) (phenol–sulfuric acid method)
- β -glucan content: 21.4% (w/w)
- Cordycepin (3'-deoxyadenosine): 0.82% (w/w) quantified by HPLC (C18 column, UV 260 nm)
- Adenosine content: 0.46% (w/w)

HPLC Conditions

- Column: C18 reverse-phase (4.6 × 250 mm)
- Mobile phase: water/acetonitrile gradient
- Flow rate: 1.0 mL/min
- Detection: UV 260 nm

Endotoxin Testing

Endotoxin contamination was assessed using a chromogenic LAL assay (GenScript, USA).

Endotoxin levels were <0.05 EU/mg (below detection threshold).

Certificate of Analysis

A full certificate of analysis (COA) was provided by the manufacturer and archived. Quality control parameters complied with international botanical extract guidelines. Chemical composition is consistent with previously reported *C. sinensis* bioactive profiles (Figure 1)^{9–11}.

2-3. Dose Rationale

The oral dose of 250 mg/kg/day was selected based on:

1. Previous immunomodulatory and radioprotective

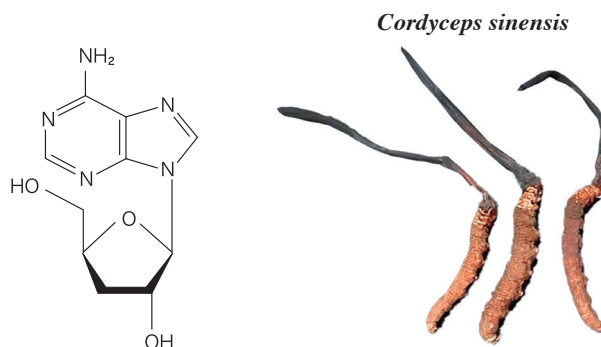


Figure 1. Chemical structure of cordycepin and *C. sinensis*.

studies^{9–11}

2. Published lung injury models using mushroom-derived β -glucans¹⁾
3. Preliminary pilot dose-response experiments demonstrating maximal cytokine suppression without toxicity (data not shown)

The dose was administered orally (10 mL/kg) once daily for 14 consecutive days.

2-4. LPS-Induced Acute Lung Injury (ALI) Model

ALI was induced by intranasal instillation of lipopolysaccharide (LPS, 10 μ g/mouse in 50 μ L sterile saline) 2 h after the final oral administration.

Control groups

- Sham: saline p.o. + saline i.n.
- LPS control: saline p.o. + LPS i.n.
- Treatment: *C. sinensis* p.o. + LPS i.n.

Twenty-four hours after LPS instillation, mice were euthanized under isoflurane anesthesia.

Outcome Measures

- Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) collection
 - Serum cytokines
 - Lung histopathology
 - Flow cytometric analysis of T-cell subsets
- Cytokines (TNF- α , IL-6, MCP-1) were measured using ELISA kits (R&D Systems).

2-5. Influenza A (H1N1) Infection Model

Mice were anesthetized with isoflurane and infected intranasally with influenza A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) at 1×10^4 PFU in 50 μ L PBS.

Oral treatment began 7 days prior to infection and continued until day 9 post-infection.

Evaluations

- Body weight monitoring (daily)
- Survival (14 days)
- Viral load (lung tissue RT-qPCR targeting M gene)
- Lung histology (H&E staining)
- Immunohistochemistry (NP antigen detection)

2-6. Flow Cytometry

Peripheral blood mononuclear cells were isolated by density gradient centrifugation.

Cells were stained with:

- Anti-CD3 (PE-Cy5.5)
- Anti-CD4 (FITC)
- Anti-CD8 (PE)

Acquisition was performed using FACSCalibur (BD Biosciences).

Data were analyzed using CellQuest Pro software.

2-7. Histopathology and Immunohistochemistry

Lung tissues were fixed in 10% neutral-buffered formalin, embedded in paraffin, and stained with H&E. TSLP expression was detected using anti-TSLP antibody (Bioss Inc.) followed by HRP-conjugated secondary antibody and DAB visualization.

2-8. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using GraphPad Prism 10.

- Data are presented as mean $\pm$ SEM.
- Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test.

- For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA.
- Post hoc analysis: Tukey’s multiple comparison test.
- Survival curves: Kaplan–Meier method.
- Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test.
- $p < 0.05$ considered statistically significant.

3. Results

Cordyceps sinensis significantly improved survival after influenza infection and reduced lung pathology. Cytokine levels TNF- α , IL-6, and MCP-1 were markedly suppressed, while CD4⁺ and CD8⁺ T-cell activity was enhanced compared to controls.

Antiviral spectrum for inactivating influenza virus (H1N1) *in vitro*

In this study, the influenza virus (H1N1) inactivating agents were divided into five product groups: a control group, a group administered a arrangement of *C. sinensis* NIHON KEFIA. The use of these products as preventive agents for influenza viruses was also examined. The results are shown in **Table 1**.

In addition, to examine the antiviral effect, *in vitro* simultaneous detection of influenza virus (H1N1) was performed. Although the control group (influenza) showed 0%, the (if)+NKG-C.S group showed a strong antiviral effect.

Flow cytometric analysis of T-cell subsets (activity of CD4⁺ and CD8⁺ cells)

The activity of CD4⁺ and CD8⁺ cells in each experimental group by flow cytometric analysis of

Table 1. shows the antiviral spectrum for inactivating influenza virus (H1N1) *in vitro*. influenza virus control group (influenza)

Influenza virus	Control group (influenza)	(if)+NKG-C.S (17.62%) $\pm$ 2.34 12 PFU/mL
H1N1	0% (0 $\times$ 10 ⁴ /215 $\times$ 10 ⁴) $\pm$ 28.36 17 PFU/mL	82.38% (173 $\times$ 10 ⁴ /210 $\times$ 10 ⁴) $\pm$ 9.85** 13 PFU/mL

Significantly different * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ control vs each groups, respectively. $\pm$ SD. PFU/mL (PFU:laque-Forming Units per milliliter). Data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey’s multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant.

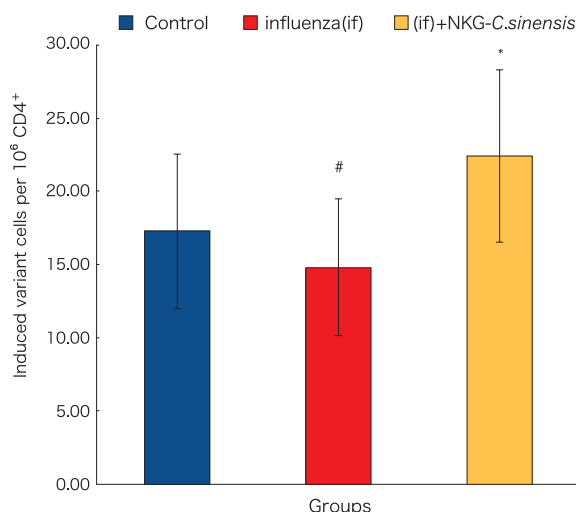


Figure 2. Comparison of the induced frequency of CD4⁺ in BALB/c mice. Each line represents the mean value $\pm$ S.E. Analyzed by data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey’s multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant ($n=10$). Significant difference control vs influenza (if) # $p < 0.05$, influenza(if) vs *C. sinensis* +if ** $p < 0.01$) between control group and each sample group.

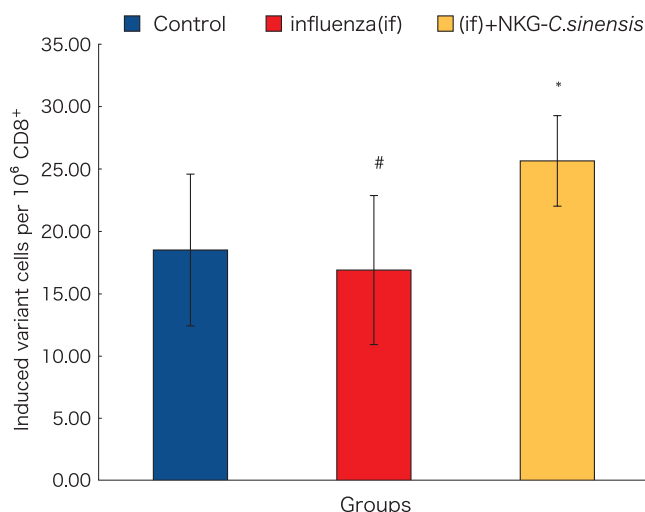


Figure 3. Comparison of the induced frequency of CD8⁺ in BALB/c mice. Each line represents the mean value $\pm$ S.E. Analyzed by data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey’s multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant ($n=10$). Significant difference control vs influenza (if) # $p < 0.05$, influenza (if) vs *C. sinensis* +if ** $p < 0.01$) between control group and each sample group.

T-cell subsets is shown in **Fig.1-2**. Compared to the control group and the sham control (influenza) infected group, CD4⁺ activity was significantly higher in the C.S. administered group in each group. Compared to the control group and the sham control (influenza) infected group, CD8⁺ activity was significantly higher ($p < 0.05$) in the C.S. administered group (**Figure 2-3**).

NF- α , IL-6 m administered group in each group.

Compared to the control group and the sham control (influenza) infected group, CD8⁺ activity was significantly higher ($p < 0.05$) in the C.S. administered group. Groups easurement results TNF- α measurement results are shown in Fig.3. IL-6 measurement results are shown in **Fig.4**. Regarding TNF- α concentration, a decrease in TNF- α was observed in the C.S. group compared to the control group and the sham control (influenza)-infected group ($p < 0.05$). Regarding IL-6 concentration, a decrease in TNF- α was observed in the C.S. group compared to the control group and the sham control (influenza)-infected group ($p < 0.05$) (**Figure 4-5**).

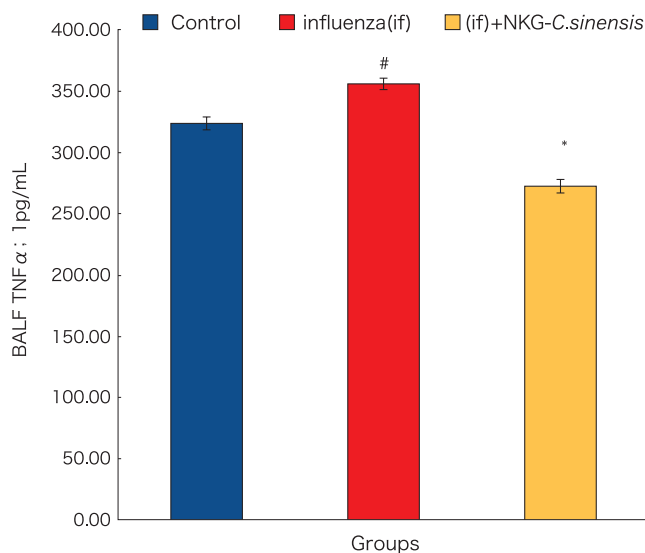


Figure 4. Effect of HS on the concentrations of TNF- α on serum of mice with ALI. The concentrations of TNF- α on serum after LPS administration and the effect of HS pretreatment in BALB/c mice. Each line represents the mean value $\pm$ S.E. Analyzed by data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey’s multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant ($n=10$). Significant difference control vs influenza (if) # $p < 0.05$, influenza(if) vs *C. sinensis* +if ** $p < 0.01$) between control group and each sample group.

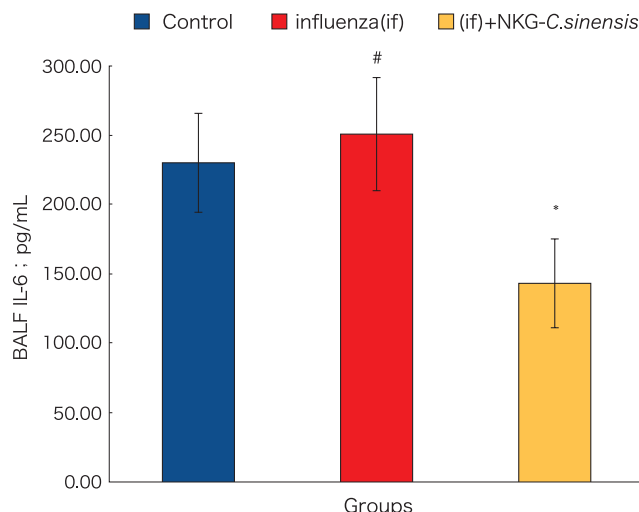


Figure 5. Effect of HS on the concentrations of IL-6 on serum of mice with ALI. The concentrations of IL-6 on serum after LPS administration and the effect of HS in BALB/c mice. Each line represents the mean value $\pm$ S.E. Analyzed by data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey's multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant ($n=10$). Significant difference control vs influenza (if) $\#p < 0.05$, influenza(if) vs *C. sinensis* +if $**p < 0.01$) between control group and each sample group.

Improvement in respiratory function and lung pathology findings after influenza virus (H1N1) infection

Improvement in respiratory function and lung pathology findings after influenza virus (H1N1) infection are shown in **Fig. 6**. IL-6 measurement results are shown in **Fig. 5**. Improvement in respiratory function and lung pathology findings after influenza virus (H1N1) infection were observed in the C.S. group compared to the control group and the sham control (influenza) infection group (**Figure 6**).

Control group (a), influenza (if) group (b), (if) + NKG-*C. sinensis* group (c). Normal alveolar wall images were maintained, and degeneration, necrosis, and loss of alveolar epithelium associated with widespread alveolar airway epithelial damage were reduced. Furthermore, compared to untreated mice, lymphocyte infiltration associated with local inflammation was observed in influenza virus infection in **Fig. 7**, **Fig. 8**.

4. Discussion

The present study demonstrates that standardized *Cordyceps sinensis* extract attenuates lung injury in

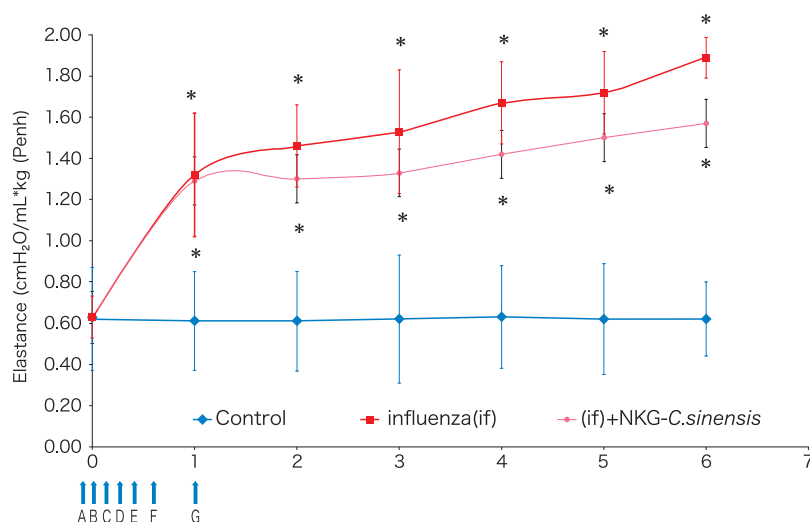


Figure 6. Airway hyperresponsiveness in various doses treatment of HS. A: Before administration, to conduct an airway resistance test; B: 30 minutes after the last administration to conduct an airway resistance test; C–G: In 2 hours after administration, given intranasal instillation of LPS from *Klebsiella pneumoniae* to induce acute lung injury. And in the 1, 2, 4, 5 and 6 days after induction were measured airway hyperresponsiveness (Enhanced pause, Penh) respectively. Each line represents the mean value $\pm$ S.E. Analyzed by data are presented as mean $\pm$ SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons among ≥ 3 groups: one-way ANOVA. Post hoc analysis: Tukey's multiple comparison test. Survival curves: Kaplan–Meier method. Group comparisons for survival: log-rank (Mantel–Cox) test. $p < 0.05$ considered statistically significant ($n=10$). Significant difference control vs influenza (if) $\#p < 0.05$, influenza(if) vs *C. sinensis* +if $**p < 0.01$) between control group and each sample group.

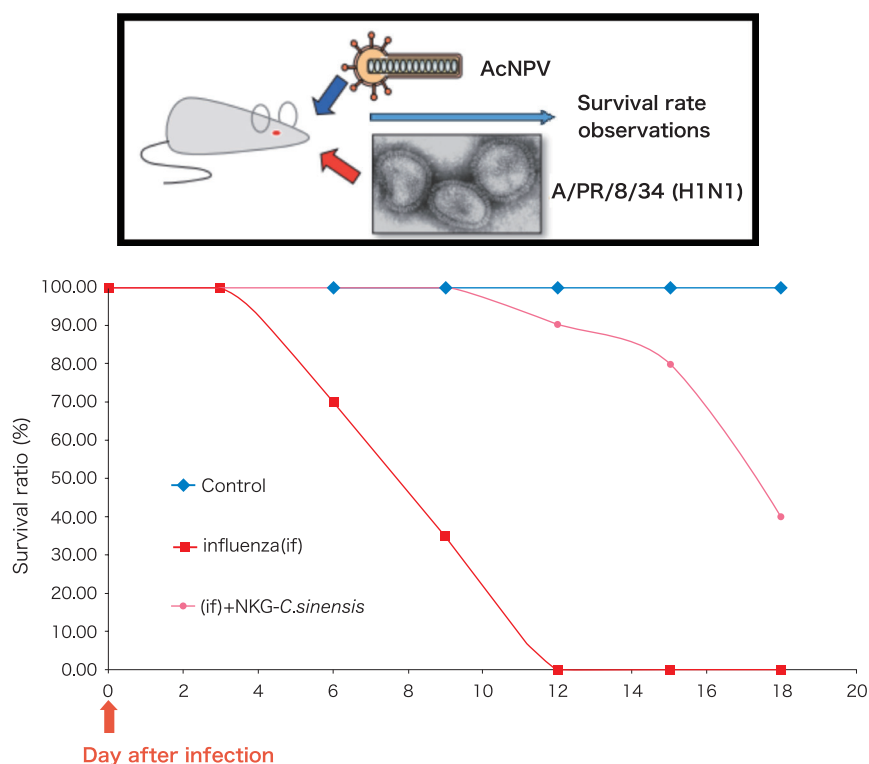


Figure 7. Protective effect against influenza virus infection in mice A lethal dose of influenza A virus was challenged to 7-week-old Balb/c mice. As a control, saline was inoculated. The survival rate up to 18 days after infection of mice was shown.

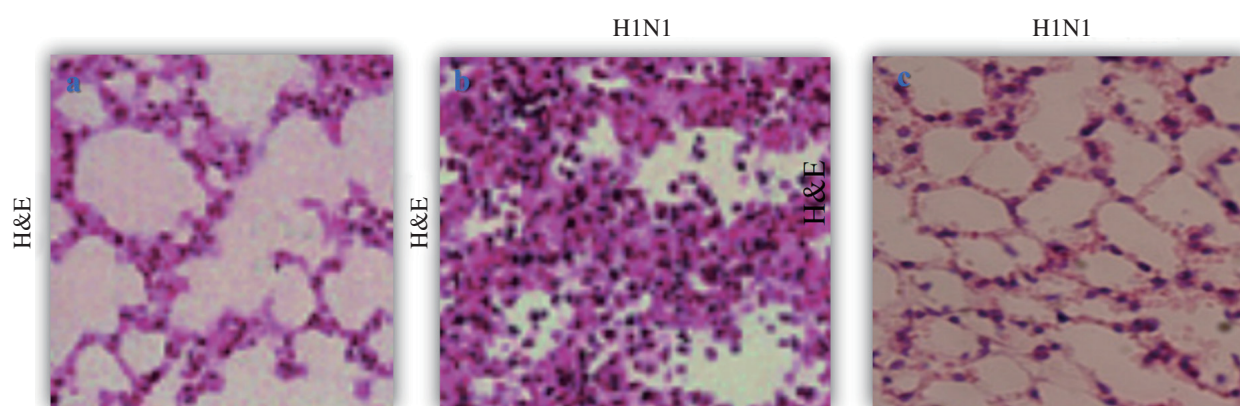


Figure 8. Lung tissue of mice inoculated with influenza virus beforehand. Control group (a), influenza (if) group (b), (if) + NKG-O. sinensis group (c). Normal alveolar wall patterns were maintained, and degeneration, necrosis, and loss of alveolar epithelium associated with widespread alveolar airway epithelial damage were reduced. Furthermore, compared to untreated mice, lymphocyte infiltration associated with local inflammation was observed in influenza virus infection.

both LPS-induced acute lung injury (ALI) and influenza A (H1N1) infection models while simultaneously enhancing adaptive immune responses. By integrating inflammatory suppression and T-cell activation within a single experimental framework, our findings provide mechanistic insights beyond previous reports¹³⁻²⁵.

4-1. Anti-inflammatory Mechanism: TLR4–TRIF–NF- κ B Axis

LPS-induced ALI is primarily mediated through activation of the TLR4 signaling pathway, leading to downstream TRIF-dependent activation of NF- κ B and subsequent production of proinflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6. Imai, *et al.*: identified TLR4 signaling as a central driver of oxidative stress-mediated

lung injury in viral infection and ALI models (12). More recently, Senkova, *et al.*: emphasized the importance of TNF- α targeting strategies in ALI²⁾.

In the present study, oral administration of *C. sinensis* significantly reduced TNF- α , IL-6, and MCP-1 levels in both serum and BALF. These findings are consistent with Fu, *et al.*, who reported that *C. sinensis* attenuated cytokine production and histopathological damage in LPS-treated mice¹⁾. Collectively, these data suggest that *C. sinensis* suppresses TLR4-mediated inflammatory cascades, likely through modulation of NF- κ B activation.

Although NF- κ B protein levels were not directly measured in this study, suppression of its downstream cytokine targets strongly supports involvement of this pathway. Future studies using Western blot analysis of NF- κ B p65 phosphorylation would further clarify this mechanism.

4-2. Enhancement of Adaptive Immunity

In addition to cytokine suppression, we observed significant increases in CD4⁺ and CD8⁺ T-cell populations in peripheral blood following *C. sinensis* administration. This suggests that the extract exerts immunomodulatory rather than purely immunosuppressive effects.

Rojas-Quintero, *et al.*: demonstrated that preservation of T-cell responses improves survival in H1N1-induced lung injury (4). Our findings align with this concept: while inflammatory cytokines were reduced, CD4⁺ helper T cells and CD8⁺ cytotoxic T cells were enhanced. Mechanistically, this dual effect may reflect:

- Restoration of Th1/Th2 balance
- Enhanced CD8⁺ cytotoxic activity against infected epithelial cells
- Improved viral clearance

Polysaccharide fractions from medicinal fungi are known to activate NK cells and macrophages. Gu, *et al.*: demonstrated enhanced systemic immunity and antitumor activity via β -glucan-mediated mechanisms (8-9). Fu, *et al.*: reported similar immunostimulatory effects of mushroom-derived polysaccharides (1). These findings support the concept that β -glucan components in *C. sinensis* may contribute to enhanced innate and adaptive immunity.

Cordycepin has also been reported to suppress inflammatory signaling and oxidative stress, further

supporting the observed cytokine modulation¹⁻⁹⁾.

4-3. Integration of Inflammation Control and Viral Defense

A critical finding of this study is that inflammation was suppressed without impairing antiviral immune activation. This is important because excessive suppression of innate signaling can worsen viral clearance.

TLR4–TRIF signaling has been implicated in influenza-associated lung injury⁴⁾. While excessive activation promotes cytokine storm and tissue damage, complete inhibition may impair antiviral responses. The ability of *C. sinensis* to reduce TNF- α and IL-6 while preserving CD8⁺ responses suggests a modulatory rather than inhibitory effect.

Airway hyperresponsiveness was significantly reduced in treated mice, supporting functional improvement. Since airway hyperresponsiveness correlates with inflammatory severity, its reduction further confirms therapeutic benefit.

4-4. Comparison with Previous Literature

Previous studies have examined either anti-inflammatory or immune-enhancing properties separately:

- LPS model suppression¹⁻²⁾.
- Viral ALI and immune modulation⁵⁾.
- β -glucan-mediated immune activation⁷⁻¹⁰⁾.

However, few studies have evaluated both inflammatory and adaptive immune parameters within the same experimental design. The present study extends prior knowledge by demonstrating simultaneous cytokine suppression and T-cell enhancement in two clinically relevant lung injury models.

4-5. Limitations

Several limitations must be acknowledged:

1. Only a single dose (250 mg/kg) was tested. Dose-response analysis was not performed.
2. A single influenza strain (A/PR8 H1N1) was used; generalizability to other viral strains remains unknown.
3. Mechanistic validation using knockout models (e.g., TLR4–/– or TRIF–/– mice) was not performed.

4. NF- κ B activation was inferred from cytokine profiles but not directly measured.
5. Viral titers were measured by RT-PCR but not confirmed by plaque assay.

These limitations should be addressed in future studies.

4-6. Ethical and Methodological Rigor

All experiments were conducted in accordance with ARRIVE guidelines. Animals were randomized using computer-generated allocation. Investigators performing histological scoring were blinded to treatment groups. Sample size ($n= 10/\text{group}$) was determined based on power analysis ($\alpha= 0.05$, power= 0.8) using previous ALI variance estimates.

These measures enhance reproducibility and statistical reliability¹³⁻²⁵.

4-7. Future Directions to Strengthen Evidence

To further increase translational relevance and mechanistic clarity, future studies should include:

- Western blot analysis of NF- κ B p65 phosphorylation
- IFN- γ quantification to assess Th1 activation
- Plaque assay for viral titration
- Oxidative stress markers (MDA, GSH ratio)
- TLR4 or TRIF knockout validation

Incorporation of these endpoints would significantly enhance mechanistic depth and publication impact.

5. Conclusion

In conclusion, standardized *Cordyceps sinensis* extract attenuates inflammatory lung injury while enhancing adaptive immune responses in both LPS-induced and influenza-induced models. The dual modulation of TLR4-mediated cytokine production and CD4⁺/CD8⁺ T-cell activation suggests that *C. sinensis* acts as an immunoregulatory agent rather than a simple anti-inflammatory compound. These findings support its potential as a complementary strategy for preventing or mitigating virus-associated acute lung injury.

References

1. S Fu, W Lu, W Yu, *et al.*: Protective effect of *Cordyceps sinensis* extract on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice, *Biosci. Rep.* **39** (2019) BSR20190789.
2. AV Senkova, IA Savin, EL Chernolovskaya, *et al.*: LPS-induced acute lung injury: analysis of proinflammatory mechanisms and TNF- α targeting strategies, *Acta Naturae* **16** (2024) 61–71.
3. Y Imai, K Kuba, GG Neely, *et al.*: Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury, *Cell* **133** (2008) 235–249.
4. Y Tan, Y Wang, L Souza-Moreira, *et al.*: Mesenchymal stem cells induce dynamic immunomodulation in influenza A virus-induced acute lung injury, *Front. Bioeng. Biotechnol.* **11** (2023) 1203387.
5. J Rojas-Quintero, X Wang, J Tipper, *et al.*: Matrix metalloproteinase-9 deficiency protects mice from H1N1 influenza-induced acute lung injury and enhances T cell responses, *JCI Insight* **3** (2018) e99022.
6. T Perlot, JM Penninger, ACE2—From the renin-angiotensin system to gut microbiota and malnutrition, *Microbes Infect.* **15** (2013) 866–873.
7. GY Oudit, Y Imai, K Kuba, The role of ACE2 in pulmonary diseases: relevance for the nephrologist, *Nephrol. Dial. Transplant.* **24** (2009) 1362–1365.
8. K Kuba, Y Imai, JM Penninger, Multiple functions of angiotensin-converting enzyme 2 and its relevance in cardiovascular diseases, *Circ. J.* **77** (2013) 301–308.
9. YH Gu, Y Takagi, T Nakamura, *et al.*: Enhancement of radioprotection and antitumor immunity by yeast-derived beta-glucan in mice, *J. Med. Food* **8** (2005) 154–158.
10. YH Gu, Y Fujimiya, Y Itokawa, *et al.*: Tumoricidal effects of beta-glucans: mechanisms include antioxidant activity and enhanced systemic and topical immunity, *Nutr. Cancer* **60** (2008) 685–691.
11. D Akramiene, A Kondrotas, J Didziapetriene, *et al.*: Effects of beta-glucans on the immune system, *Medicina (Kaunas)* **43** (2007) 597–606.
12. D Bonnet, JE Dick, Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell, *Nat. Med.* **3** (1997) 730–737.
13. MF Clarke, JE Dick, PB Dirks, *et al.*: Cancer stem cells: perspectives on current status and future directions, *Cancer Res.* **66** (2006) 9339–9344.
14. M Al-Hajj, MS Wicha, A Benito-Hernandez, *et al.*: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100** (2003) 3983–3988.
15. X Li, MT Lewis, J Huang, Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy, *J. Natl. Cancer Inst.* **100** (2008) 672–679.
16. SD Konduri, R Medisetty, W Liu, *et al.*: Mechanisms of estrogen receptor antagonism toward p53 and its implications in breast cancer therapeutic response and stem cell regulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107** (2010) 15081–15086.
17. CM Fillmore, PB Gupta, JA Rudnick, *et al.*: Estrogen expands breast cancer stem-like cells through paracrine FGF/Tbx3 signaling, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107** (2010) 21737–21742.
18. Y Zhang, G Eade, Y Yao, *et al.*: Estrogen receptor- α signaling regulates breast tumor-initiating cells by down-regulating miR-140 which targets the transcription factor SOX2, *J. Biol. Chem.* **287** (2012) 41514–41522.
19. T Bachelot, C Bourcier, C Cropet, *et al.*: Randomized phase II trial of everolimus in combination with tamoxifen in hormone receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer, *J. Clin. Oncol.* **30** (2012) 2718–2724.
20. BJ Haubner, GG Neely, Y Imai, PI3K γ protects from myocardial ischemia and reperfusion injury through a kinase-independent pathway, *PLoS One* **5** (2010) e9350.
21. M Begley, CG Gahan, C Hill, Bile stress response in *Listeria monocytogenes* LO28: adaptation, cross-protection, and identification of genetic loci involved in bile resistance, *Appl. Environ. Microbiol.* **68** (2002) 6005–6012.
22. PA Bron, C Grangette, A Mercenier, *et al.*: Identification of *Lactobacillus plantarum* genes that are induced in the gastrointestinal tract of mice, *J. Bacteriol.* **186** (2004) 5721–5729.
23. PA Bron, M Marco, SM Hoffer, *et al.*: Genetic characterization of the bile salt response in *Lactobacillus plantarum* and analysis of responsive promoters in vitro and in situ in the gastrointestinal tract, *J. Bacteriol.* **186** (2004) 7829–7835.
24. J Chen, H Xu-Feng, The effects of diets enriched in beta-glucans on blood lipoprotein concentrations, *J. Clin. Lipidol.* **3** (2009) 154–158.
25. I Kashiwakura, Overview of radiation-protective agent research and prospects for the future, *Jpn. J. Health Phys.* **52** (2017) 285–295.

インフルエンザ A (H1N1) 感染マウスにおいて LPS 誘発性急性肺損傷を軽減効果と抗ウイルス T 細胞応答に対する標準化された冬虫夏草抽出物の効果に関する研究

具 然和 (GU Yeunhwa)^{1*}, 山下 剛範 (YMASHITA Takenori)², 井上 登太 (INOUE Tota)³

Key Words: *Cordyceps sinensis*, Influenza, Acute lung injury, IL-6, TNF- α

要旨

背景：急性肺損傷 (ALI) および急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) は、インフルエンザウイルス感染によって引き起こされることが多い重篤な炎症性肺疾患である。標準化された天然物を用いた安全な補助療法への関心が高まっている。本研究では、リポ多糖 (LPS) 誘発性 ALI およびインフルエンザ A/PR8 (H1N1) 感染モデルにおいて、冬虫夏草菌糸体 (ロット番号 NK-2023-0823) の標準化熱水抽出物の保護作用および免疫調節作用を検討した。

材料と方法：雄 BALB/c マウス (各群 $n=10$) に、LPS (10 μ g/ マウス、鼻腔内投与) または H1N1 ウイルス感染 (1 $\times 10^4$ PFU, 鼻腔内投与) の 14 日前から冬虫夏草抽出物 (250mg/kg/ 日) を経口投与した。気道過敏性、肺組織病理、生存率、サイトカイン産生 (TNF- α , IL-6, MCP-1 ; ELISA), ウイルス量 (RT-PCR), および CD4⁺/CD8⁺ T 細胞サブセット (フローサイトメトリー) を評価した。データの正規性はシャピロ・ウィルク検定を用いて評価した。群間の差は一元配置分散分析 (ANOVA) 後、テューキーの事後検定を用いて解析した。生存率はカプラン・マイヤー曲線とログランク検定を用いて解析した。

結果：*in vitro* 抗ウイルス解析では、H1N1 ウイルスの複製が著しく阻害され、*C. sinensis* 投与群ではウイルス不活化率が 82.38% (173 $\times 10^4$ /210 $\times 10^4$) に達したのに対し、インフルエンザ対照群では 0% であった。生体内試験において、前処置により血清および気管支肺胞洗浄液中の TNF- α , IL-6, および MCP-1 濃度が有意に低下し、気道過敏性が軽減され、肺組織病理学的所見が改善された。CD4⁺ および CD8⁺T 細胞の頻度は、インフルエンザ対照群と比較して有意に増加した ($p < 0.05$)。治療マウスでは生存期間が有意に延長した (ログランク検定 $p < 0.05$)。

結論：標準化された冬虫夏草抽出物は、炎症性サイトカイン産生を抑制し、抗ウイルス T 細胞応答を増強し、インフルエンザ関連急性肺損傷 (ALI) における生存率を改善する。このことから、呼吸器ウイルス損傷に対する機能性食品由来補助剤としての可能性が示唆される。

* 責任著者：具 然和 (Yeunhwa Gu)¹

所属機関

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

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

² 鈴鹿医療科学大学大学院保健衛生学研究科 〒 510-0293 三重県鈴鹿市岸岡町 1001 番地 1

³ みえ呼吸嚥下リハビリクリニック 〒 519-0171 三重県亀山市アイリス町 14-7

マルラ (MARULA)

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1,2}, 竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)³, 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)³

Key Words: マルラ, ナッツ, クローン

本論文「マルラ (MARULA)」は “Lost Crop of Africa” volume III Fruits NATIONAL ACADEMY PRESS の MARULA を紹介するものである。

マルラ (*Sclerocarya birrea*) が「王の食べ物」と呼ばれているのも、当然のことである。これはマルラに関するバントゥー語の一般的な表現である。例えば、モザンビークや南アフリカ、ジンバブエの近隣地域に住むトンガ族がマルラをそう呼んでいる。西はカーボベルデ、東はアフリカの角、南は喜望峰に至る巨大な三角地帯では、その果実とマカダミアに似た種子が珍重されている。多くのアフリカ人は、マルラの実を贈ることを友好の証と考えている。いくつかの社会では、この木は主要な食料供給源として位置づけられており、その経済的・社会的重要性は「マルラ文化」があると言われるほどである。このことは、たとえばファラボルワ族についても言われている。

マルラはプラム大の石果で、皮は厚く黄色、果肉は半透明の白色をしている。多くは生食されるが、多くは飲料やジャム、ゼリーなどにも加工される。ジューシーな果肉には独自の風味があるが、ライチのようだ、リンゴのようだ、グアバのようだ、パイナップルのようだ、様々な作家が表現している。味はともかく、果汁は栄養的に重要で、オレンジ・ジュースの4倍ものビタミンCを含んでいる。

果実の中心にある石状の硬いものの中の核も食べられる。こちらも栄養価が高く、繊細な味は言うに及ばず、ロウソクのように燃え上がるほど油分が多い。これらのナッツは、人間にも獣にもおいしい栄

養を与えてくれる。

このように、マルラは果樹であると同時にナッツの木でもあり、幹上の軽食店である。また、食料安全保障にも役立つ。この点で特に重要なのは、穀物ストックの低い、他の収穫収穫できる形にまだ達しない季節の間に、マルラが食料を供給するという事実である。また大切なのはナッツの保存性が十分で他のものがなくなった後の長い間それらが栄養食品を与えるということである。



図1 マルラ (*Sclerocarya birrea*)

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会前会長, ³ 神戸女子短期大学



図2 ナミビアのオシャカティ。アフリカ全土でマルラの果実と種子の需要は高い。地域によっては、この木は主要な食料供給源として位置づけられている。大きく広がるこの木は、食材はもちろんのこと、その木陰と美しさでも珍重されている。この樹種は非常に干ばつに強く、暑さ、厳しい日差し、困難な条件に対する耐性は伝説的である (Klaus Fleissner)。

生きている木はそれ自体が注目に値する。成長しきった木は大きく、日陰になる。人々は、果実だけでなく、その木陰や美しさからも、純粋にこの木があることを好む。農民が土地を切り開くとき、この木だけが残されることも多い。マルラは古くから意図的に植えられてきた。生育は旺盛。例外的な暑さのもとでも成長する。そして、園芸上最も人を寄せ付けない地形にも耐える。

マルラの果実は摘み取られることはない。傷つくことなく地面に落ち、その後5日ほどで熟す。農家では、動物が先に果実に到達しないように、木の周りに精巧な柵を作ったり、とげのある枝を積んだりするのが一般的だ。

完熟すると果肉はオレンジのような心地よい甘酸っぱさになるが、ほとんどの果実は酸味が強い。マルラの中には、後味にわずかにターペンタイン(テレピン油)を感じるものもあるが、これは万人に好まれる特徴ではない。香りはリンゴのような心地よいものだが、熟しすぎた果実が大量にある場合は、強すぎることもある。

しかし、これらの果実を生で食べることはほとんどない。ほとんどは様々な飲み物に使われる。例えば、果汁を水に入れると、爽やかなスカッシュができる。この液体を数日間置いておくと、発酵してハードサイダー(リンゴの醸造酒)状になる。味も栄養価も高いが、その結果、非常に酔わせることができる。南アフリカでは、マルラ果汁飲料(ソフト・ハー

ド両方)が商品化されている。その生産量には驚かされる(少なくとも、これが「失われた」作物であり、組織的な生産がまだほとんど行われていないことを考えれば)。例えば、最近の1年間で、南アフリカだけで約500トンのマルラがジュース用に、2,000トンがリキュール用に商業加工された。飲み物を越えて果物は琥珀色のゼリーで人気がある。このゼリーはとても貴重なもので、業者たちはグルメな値段をつけ、高級な食通たちに売りさばいている。

マルラは、カシューナッツやピスタチオ(マンゴーは言うまでもない)と同じ植物科に属し、それらの有名な親戚のように、広く栽培されるナッツの木になる可能性がある。実際、種の周りの果肉よりも、種の中の核の方が求められることが多い。味はマカダミアに似ており、尊敬する客人に出す特別なご馳走とされている。さらに、マルラの実は、アフリカ南部で高く評価されているモンゴ・ナッツをものぐほど栄養価が高い。マルラのナッツは100gあたり750キロカロリーもあり、モンゴのナッツが約640キロカロリーであるのに比べ、カロリーが高い。また、タンパク質と脂質の含有量も高い。もちろん、モンゴのナッツに比べ、マルラのナッツは量が少なく、抽出が難しく、大きさもはるかに小さい。

重要な特徴は、マルラの種子が(少なくとも清潔で完全に熟していれば)劣化することなく何カ月も保存できることである。マルラ種子の重要な特徴は、(少なくともきれいに完熟していれば)劣化することなく何カ月も保存できることだ。マルラ種子が生息する地域全体、特に穀物栽培が不安定な地域では、マルラ種子の山が非常食の隠し場所として村々に見られる。菌類も昆虫も岩のように硬い殻を突き破ることはできない。

先に述べたように、穀粒は油分が豊富で、平均して約55~60%含まれている。油自体には不飽和脂肪酸が多く含まれ、一般的にオレイン酸が70%、リノール酸が8%と、エリート植物油であることを示す優れた数値を示している。

良質な脂質だけでなく、穀粒にはかなりの量のタンパク質(23~31%)が含まれている。また、カルシウム、マグネシウム、リン、カリウム、ナトリウムなどのミネラルも含まれている。

これらすべての栄養成分を考慮すると、マルラナッツは、カシューナッツのように世界的な食用に

なる可能性さえある。しかし、殻から取り出すのが大きな問題である。種子の木質化した外皮は厚く硬いため、ナッツをそのまま取り出すのが難しいのだ。

この豊富な食材をもたらす植物は、アフリカ南部から熱帯にかけての生息域に分布しているが、主に高温で乾燥した開けた森林地帯に集中している。ひとは南部地域に自生する亜種 *caffra* で、もうひとつはさらに北に自生する亜種 *birrea* である。本章で取り上げるのは南部産のもので、栽培地は限られているが、作物としてはより発展している。

標準的な意味では家畜化されていないが、マルラは実際に栽培されている。何百年もの間、アフリカ人はマルラを植えており、その分布は人類の移動パターンとほぼ完全に重なっている。

つまり、人々はこの木が好きで、種を持ち歩き、道端に植えて歩いたのである。また、ナミビアのような国々では、野山に点在しているように見える樹木の大半は、実は特定の家族が所有している。



図3 マルラは乾燥地帯の絶え間ない太陽の光を浴び、そこで力強く成長する。並外れた暑さのもとで成長し、園芸上最も過酷な地形にも耐える。マルラの果実は生食もできるが、ほとんどは飲料やジャム、ゼリーに加工される。味は酸味があり、甘く爽やかで、リンゴやパイナップルに似ていると言われている。種の中の核は、しばしばマカデミアナッツと比較される。(Elaine Solowey)

実をつけるのは雌だけだからだ。エリートの子孫を挿し木から育てる習慣も、伝統的な知識の一部である。

このような特徴から、マルラ（すなわち南方系）は少なくとも家畜化のはしごの1段階目にあると言える。さらに、南アフリカの園芸家たちは、過去25年にわたって優れたタイプを選抜し、クローンを作ってきた。実際、それらのクローンの一部は、南アフリカとボツワナの両国で集中的な栽培が始まっている。この作物はまた、イスラエルのネゲブ砂漠に4カ所設けられた導入果樹園で試験栽培と園芸開発が行われている。

マルラがさらなる開発に値すると考えるには、いくつかの良い理由がある。ひとつは、この種の生産性が非常に高いことだ。南アフリカでは、多い年には1本の木に91,000個もの果実がついたことがある。ナミビアでは、1本の大木に1シーズンで4.5トンの果実がついたことがある。

もうひとつは、ナッツの殻を剥くことで、他にほとんど収入源のない何千人もの農村女性に仕事を提供していることだ。

そして3つ目は、果実とナッツの両方にかなりの商業需要があることだ。ナミビア、ボツワナ、ジンバブエ、南アフリカでは、多くの果実が村人によって集められ、マルラを加工するために設立された施設に売られている。果肉は、ジュース、ジャム、ゼリー、ピューレ、リキュールなどの形で、すでに商業の主流に登場している。また、ナッツからオイルを抽出し、高価なスキンケア製品に使用することもできる。この製法はナミビアのパイオニアであり、ナミビアではこの目的でマルラオイルを輸出している。

将来性

現在のところ、マルラは亜熱帯の作物であり、適応は限定的だが将来性はかなりあると考えられている。というのも、フルーツジュースやリキュールの人気が高まり、南部アフリカ全土で園芸への関心が高まっているからだ。リンゴのような心地よい香りとライチ、パイナップル、グアバのような風味は、栄養価の高さもさることながら、この果実がジュースやゼリー、飲料などに加工されるのに適していることを意味している。

アフリカ国内

サザン・マルラがアフリカの他の地域でどの程度通用するかは、今のところ未知数である。もしかしたら、素晴らしい結果を残すかもしれない。以下はそのシナリオである。

湿度の高い地域 予断を許さない。南部亜種は高温湿度への適応性が低いようだ。しかし、北部の亜種は高温で厳しい条件下での新たな資源となる可能性がある。すでにザンビアではかなり広範囲に植えられている。

乾燥地域 優れた将来性、マルラは塩水に耐性があり、砂漠の暑さでも元気に育つ。乾燥すると果実はやや小さくなるが、木は干ばつの間でも実をつけ続ける。しかし、一度樹勢がつけば、乾燥で枯れることはほとんどない。

高地 見込みが立たない。やや霜に弱い、気候に合う場所があるかもしれない。

アフリカ以外

アフリカ以外の土地で、この植物がどの程度うまくいくのか、またその果実やナッツがどの程度受け入れられるのかは未知数であり、不確かである。しかし、この植物が適している地域で、小規模な試験栽培を行うことは可能である。



図4 マルラの果肉は、フルーツソフトドリンク、ネクター、紅茶、ブランデー、リキュール、ビール、ワイン、パンチなどのアルコール飲料の風味豊かな天然ベースとして役立っている。マルラはすでに、ジュース、ジャム、ゼリー、ピューレ、リキュールという形で商業にも登場している。(Cori Ham)

用途

マルラは主に果実とナッツを提供するが、それはほんの手始めに過ぎない。次のようなものを考えてみよう。

新鮮な果実 亜熱帯南部アフリカの多くの地域では、果実は新鮮なまま食べられている。調理されることもある。果汁はおいしい飲み物になるだけでなく、煮詰めると濃い黒色のシロップになり、主にソルガム粥の甘み付けに使われる。果肉は乾燥させて保存することもでき、その場合は穀物の粥に加えるのが一般的である。

加工食品 マルラから作られる飲み物はどこでも人気がある。多くの地域でローカルマニラビールが自慢である。例えば、ジンバブエ南東部では「ムクンディ」と呼ばれ、好まれている。例えば、ジンバブエ南東部では「ムクンディ」と呼ばれ、多くの人々に愛飲されている。スワジランドでは、非常に強力なマルラ・ビールが人気で、現地の人々に大きな影響を与えている。ナミビアでは、マルラワインの公式シーズンがある。ナミビアでは公式のマルラワイン・シーズンがあり、その期間中は伝統的な武器の携帯が禁止され、犯罪を犯すと通常の2倍の罰が科される。南アフリカでは、より洗練された味覚のための蒸留酒が開発されている。「アマルーラクリーム」というリキュールが、地元市場だけでなく、国際的な取引でも入手できるようになった。

ナッツ類 マルラのナッツは、肉料理、青菜料理、おかゆの風味付けに使われるほか、叩いて粉にしたり、プレスしてケーキにしたりもする。また、クルミやピーカンのように、実をお菓子作りに使うこともできる。特に、主食が収穫される前の「飢餓の季節」に、タンパク質と食物エネルギーを供給するために使われる。

植物油 穀粒から抽出される油は、オリーブ油に似た脂肪酸組成を持つ。モノ不飽和脂肪酸が高いだけでなく、トコフェロールが比較的少ないため、非常に安定性が高い。マルラ・オイルは、その化学組成から、揚げ物、化粧品、ドライフルーツなどの食品へのコーティングに適している。現在のところ、一

一般的な食用油として成功するには高価すぎるが、特殊なサラダ油としてニッチな市場を見つけることができるかもしれない。また、化粧品への利用も広がるかもしれない。「乾燥しない」うえ、肌の老化を防ぐ性質があると報告されている。抗菌作用が評判のマルラ・オイルは、傷や火傷の治療に使われる。また、ビルトン（乾燥肉）の保存料としても使われている。

飼料 畜産農家は、マルラの木が敷地内に点在しているのが大好きだ。この大きく葉の茂った木は日陰を作り、果実、葉、樹皮は優れた飼料となり、特に干ばつの時期にはありがたい。野生動物にとってもマルラは重要で、ゾウ、サイ、キリン、クドゥーからイボイノシシやハリネズミにいたるまで、草食動物や雑食動物の大群にとって、再生可能な生きた食料源となっている。特にヒヒは、木の下に散らばった熟した果実を好んで食べる。

花 蜜を大量に生産するため、この木は養蜂家にとって重要な資源となっている。蜂蜜は淡色で風味が良い。

木 季節とともに硬くなり、やがて耐久性と強度を増す。汚れた白色で、赤や茶色の筋があるが、磨くときれいなピンク色になる。彫り師はドラム、スタンプ台、桶、スプーン、スツール、ボウルなどに加工する。加工が容易で割れないため、かつては便座材として人気があり、南アフリカでは危うく絶滅危惧種になるところだった。

その他 マルラの根の酒は、抗マラリア薬として有名である。村によっては、シラミの駆除にマルラの木が使われている。

栄養

マルラの果肉は微量栄養素の重要な供給源であるが、栄養学的に興味深いのはビタミンCである。果肉には一般的に 100g あたり 180mg のビタミンCが含まれているが、もっと高濃度のものもある。この点で、マルラはオレンジ、グレープフルーツ、レモンをしのぐ。果汁 1ml あたり 2mg（果実 1 個に含まれる果汁の量に匹敵する）は、この必須栄養素

の特に重要な供給源である。果肉に含まれる炭水化物の量は 7~16% である。酸味は主にビタミンC（アスコルビン酸）とクエン酸によるものである。

栄養学的に言えば、マルラにはオレンジに欠けているものがある～良好なナッツ味である。食物エネルギーが豊富で、通常 100g あたり約 700 キロカロリーを含み、アーモンド、栗、ヘーゼルナッツなど世界的に有名なナッツの栄養価を上回る。

その上質な味わいから、マルラの実は珍味と称されている。脂肪分、タンパク質、ミネラルを豊富に含むため、冬や干ばつ時の栄養補助食品として重宝されている。栄養価は非常に高く、タンパク質 28~31%、油分 56~61%、クエン酸 2.02%、リンゴ酸、糖分、リン、マグネシウム、銅、亜鉛、ビタミンB群（チアミン、ニコチン酸）を含む。脱脂ナッツミートのタンパク質レベルは 54~70% と報告されている。

園芸

種子は夏の終わりに（果実の中で）成熟し、数ヶ月の休眠の後、熱（30℃前後）と水分があれば簡単に発芽する。

植物繁殖はまだ始まったばかりだが、イスラエルの園芸家たちは、根の挿し木による繁殖が非常に簡単であることを発見している。このような技術は、エリート標本のクローンを作るのに使えるだけでなく、苗木の栽培者が苦しまなければならない長い幼苗期を避けることもできる。この植物はまた、以下の方法でも増殖させることができる。

雨季に大枝の一部を地面に突き刺す。このいわゆるトランションは通常、長さ約 2 メートル、直径 10 センチで、60 センチの深さに植えられる。芽が膨らむところに切り取れば、すぐに根が張り、豊富な根を素早く勢いよく出すことができる。

ある株の枝材を別の株の苗木に接ぎ木する方法（ターミナル・グラフトを使用）は、非常に成功すると報告されている。この作業は、春の新芽が伸び始めたところに行う。シーラントで覆われたこのような接ぎ木は、ほぼ完全に成功している（ある品種では 98%）。

一般にマルラの木には害虫や病気がほとんどない。実際、マルラの木には殺虫成分が含まれていると考えられている。しかし、熟した果実には厄介な

ミカンコミバエが侵入し、少なくとも2種の蛾の毛虫にも襲われる。

収穫と取り扱い

大体において、果実は木から落ちるときには固いので扱いやすい。その時点で果皮は十分に堅く、落下による打撲に耐えるだけでなく、果実の保存性を高めている。イスラエルでの観察によると、木によって実を落とす時期は異なるが、どの木も2週間以内に80%の実を落とすという。

収量はまともではない。1本の木から1トンもの果汁が得られる。果汁は、ラック・アンド・クロス・プレス法などの標準的な技術で分離することができる。南アフリカの国立食品研究センター (National Food Research) は、近代的な技術を使って、この果実から果汁を分離する方法を開発した。

果実の熟し方に保存温度が影響するのは意外なことではない。テストでは、12℃と20℃で保存した果実は黄色く熟し、ジュースに適していた。より高い温度で保存されたものが最も熟していた。黄色が濃く、果汁が多く、酸味が少なかった。4℃で保存された果実は14日間緑色で硬く、傷んでいないように見えたが、室温 (20℃) で5日間保存すると褐色の斑点ができ、風味が悪くなった。

一方、ナッツは扱いが難しい。桃の石のような種子の殻を剥き、中の実を取り出すのはほとんど芸術だ。熟練した地元の人々の中には、この作業に棘を使う者もいれば、金属製、木製、骨製の特別な「ティースプーン」や抽出器 (マルラの季節にはネックレスから吊るすこともある) を使う者もいる。種を茹で

るか軽く煎ることで、すべての作業が簡単になる。茹でると胚盤を密閉している蓋が膨張し、取り出しやすくなる。

限界

マルラの果実と苗木は多くの動物の大好物である。そのため、すべての植栽は注意深く保護する必要がある。南アフリカでは、ゾウが主要な種子散布者の一つである。ゾウは木の樹皮を剥ぐこともあるが、樹木は自然に治癒する。キリンやアンテロープ (特にクーズーとニャラ) も葉と果実の両方を食べる。ヤギは若い木にとって深刻な脅威となるため、村の近くでは自生した苗木はどこにも見当たらない。

多くの人がマルラの果実を美味しいと感じているが、果肉が多く果汁が少ないことに失望する人もいる。これは品種改良によって改善できるかもしれないが、極上のジューシーさも魅力の一つである。もちろん、それは個人の好みや期待によって決まる。

さらに深刻な限界は、果肉が種にしっかりと付着していることである。昔のマンゴーや桃のように、柔らかい繊維状の繊維が果肉を種に付着させている。種の大きさももう一つの欠点である。果実全体の容積に対して、このサイズはかなり大きい。さらに、厚い皮は果肉の容積を少なくとも多少は損なう。

現在、マルラのほとんどは種子から栽培されているため、植え付けから生産までに長い時間がかかる。これは新規栽培の大きな制約であり、クローンではこの制約を回避できる。

熟した果実は強い香りがすることがあり、あるものは好み、あるものは嫌うという好き嫌いが分かれ



図5



図 6

るところである。熟しすぎた果実は発酵によって香りが悪化することがある。

このナッツは将来性に富んでいるが、大きな問題は生産性が比較的低いことである。仁は周囲の木質殻の大きさに比べて小さい。その結果、1 トンの実から得られる油はわずか 40kg、食用タンパク質は 40kg しかない。

次のステップ

この種は、貧困の緩和と農村部の生計の多様化にとって、素晴らしい資源となるようだ。商業的価値が認められており、飢饉の時期には重要な栄養素を提供することで、人々や動物の生命を支えている。しかし、完全に「失われた」作物ではないものの、その生産物については依然として多くの不確実性があり、その効用については未解明な点が数多く残されている。そのため、様々な研究機会が生まれるが、必ずしも専門の研究者を必要とするものではない。以下は、研究が必要な分野。

商業開発 この広く愛されている植物の生産量増加は、科学よりも起業家精神、モチベーション、そして投資にかかっている。園芸面は比較的容易である。加工には多少の作業が必要だが、基本的には既に完了している。しかし、市場は未発達であり、多くの開発が必要である。

マルラは果樹園でのみ、あるいは純粹に商業目的のために栽培される必要はない。実際、マルラはア

フリカ全土の農村地域にとって大きな収入源であり、開発は、マルラを持続可能な形で生産するためのシステムに焦点を当てるべきで、地域レベルの生産を促進する。

とはいえ、より大きな商業市場は、商業目的で何千本もの木を植えるスペースや資金がない農村部の生産者に収入機会を提供するだろう。さらに、マルラは食料を買うお金がない人々の栄養と食料安全保障はもちろんのこと、様々なレベルで農村開発に貢献することができる。

飼料 マルラは飼料用樹木の中で最も古いものの一つであるにもかかわらず、葉の飼料価値はほとんど知られていない。今こそ、標準的な栄養分析が必要とされている。これは、作物を育成するための優れた方法となることが多い。実用的発達は多分同時であり家畜を飼育する農家は、飼料がなければ生計を立てられないため、有望な飼料作物の追究に非常に意欲的であるため、自然発生的に開発が進む可能性が高い。

選抜 商業的發展という点では、これは研究努力が最も活発な分野である。生鮮果物、加工果物、そしてナッツ類の生産に適した優れた野生樹木の更なる選抜が必要である。より小さな種とおそらくより薄い皮を持つ、より大きな果実は、明らかにほとんどの用途においてより望ましいであろう。また、早熟性が向上し、収量が高い品種も非常に歓迎される。



図7 世界中でマルーラの実からオイルが抽出され、高価な皮膚のポーションに使用されているが、現在、マルーラのジューシーな果肉から最も商業的に成功している製品、すなわちクリームリキュールが生まれている。地元の村人たちは畑から実を丸ごと収穫し、季節ごとの収入源としている。次に、果肉から皮と種を分離し、ブドウのように丁寧に発酵させる。こうして生まれたマルーラワインは、果実の固形分と混ぜられ、銅製のポットスチルで蒸留され、小さなオーク樽で約2年間熟成される。マルーラ独特の風味が凝縮されたワインである。最終工程では、このリキュールを生クリームとブレンドする。こうして生まれた、滑らかで安定した、甘美なクリームリキュールは、約150カ国で販売されている。(Distell Group Limited)

栄養繁殖 クローニング（トランション（太い枝や棒を使った大きな挿し木）を含む）は、この作物を成功させる鍵となる。第一に、クローニングは果実の品質を向上させ、植え付けから最初の収穫までの期間を劇的に短縮する。この技術は既に利用可能であるように思われる。例えば、耐寒性はあるものの実のつき方が劣る樹木を、より優れた植物から選抜された穂木のための台木として使用することができる。今必要なのは、苗木業界とアマチュア園芸家の協力を得て、選りすぐりの品種を家庭菜園や果樹園レベルの栽培者に広く提供することである。

害虫防除 この植物は通常、害虫の被害を受けにくい。マンゴーの害虫でもあるマルーラミバエ (*Ceratitis cosyra*) を駆除するための確実な方法があれば、その将来性は高まるであろう。

食品技術 マルラには、まだ多くの食品技術が応用されていない。重要な技術の一つは、ナッツの加工である。実を取り出すための実用的な方法の開発が必要である。ハイテクな皮剥ぎ機は必要ない。安価でシンプルでありながら、農村部の農家に適した比較的労働集約的な技術が理想的である。そうすれば、農村部の女性たちが自分の時間を使って種子を皮剥ぎできるようになる。

遺伝的発達 この種には多くの遺伝的変異があると考えられており、有望な個体間の差異を長期的に観察し、活用できる遺伝子バンクを設立する良い機会である。

作物の将来の方向性を予測することは困難だが、既存の遺伝資源を精査し、果実が以下の条件を満たす品種を選定することで、マルラの開発において特に4つの方向性が示唆されている。

- 果実が大きく（80グラム以上）、味が良く、果肉が厚い（生果、フルーツレザー、マーマレードなど）。
- ジューシー性に優れている（ネクター、シロップ、フルーツドリンクなど）。
- 糖度が高い（アルコール飲料の製造）。
- 種子が大きい（オイル製造用）。

優れた個体の選抜と繁殖に加え、群落内の性比を、通常の雄優勢から、雄1対雌5程度に変化させることも重要である。

植林 マルラは植生再生に非常に優れている。例えば、イスラエルではマルラの植栽が広く行われている。ユダヤ国立基金の植林部門は長年にわたり、干拓地、道路脇の林、防風林用に苗木を配布してきた。今日では、このアフリカの小さな木が、多くの場所で森林伐採と砂漠化の傷跡を癒しているのを目にすることができる。この用途はアフリカではあまり評価されていないが、マルラは直ちに試験や植林プログラムに組み込むべきである。

生理学 この植物の商業化の初期段階では、マルーラの気候や土壌への適応性の限界は誰にも分かっていない。アフリカ大陸の大部分で試験を行う必要があ

る。重要な発見は、植物の生存よりも商業的実現可能性に関するものである。

フェノロジー (生物季節学) マルラは、アグロフォレストリー (森林農業) において優れた樹種となる可能性がある。アフリカの農村部ではこの木が愛され、何百万人もの人々が農場にもっと植えたいと考えている。しかし、様々な場所における葉の展開、開花、果実の落下、その他の季節的特徴の時期をより深く理解する必要がある。近隣の作物との相性も総合的に評価する必要がある。特に、優れた雌株が開花している時期に花粉を供給する雄株を見つけることが非常に重要である。

亜種の生育 植物学者は、視覚的な違いの観察に基づいてこの種を亜種に分類してきた。今こそ、それぞれの真の遺伝的差異と生育要件をより深く理解すべき時である。この理解から、より暑く乾燥した北アフリカ地域でのマルラの利用を大きく促進する可能性のある、多くの驚くべき興味深い事実が明らかになるであろう。また、亜種カフラと亜種ビレアの交雑種も可能であり、双方に大きな利益をもたらすであろう。

種の情報

植物名 : *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. 特に *S. birrea* subsp. *caffra* (Sond.) Kokwaro *Sclerocarya birrea* 亜種 *caffra* は南アフリカに自生している。タンザニア中央部に生息する多葉亜種。亜種西アフリカからタンザニアにかけてのビレア。

科名 ウルシ科, マンゴー科。

別名 *Sclerocarya caffra* Sond.; *Poupartia birrea* (A. Rich.) 略称 *Spondias birrea* A. Rich.

一般的な名前

アフリカーンス語 : maroela, olifantsappel

アラビア語 : homeid

バントゥ語 : mupfuna

英語 : morul

ブルキナファソ : ノアベガ (詳細)

英語 : マルーラまたはエレファントプラム, マルーラ, サイダーツリー

フランス語 : prunier

マリ : kountan, kountango (バンバラ)。bi (Dog.)

マラウイ : mefura

モザンビーク : ムダンワ (center), カヌー (south)

ニジェール : イード, ディナー, ディネニャ (ソンライ)

セネガル : bire (Wolof), beur, biét (Ouol.)。aritj (シリアル)

ショナ語 : mutsome, mupfure

スワジランド : ブガヌ (木と果実から作られた飲み物の両方の名前) ザンビア : ムセベ, ムオンゴ, ムセウェ

ジンバブエ : mganu (マタベレランド), マナガーン, bufuna, musomo

ズールー語 : unganu (友達の意味)

ナミビア : Omuongo (オシワンボ)

説明

この美しく、形のよい落葉樹は、多くの場合単幹だが、常に単幹というわけではなく、高さが20メートルに達することもある。成木の樹皮は特徴的で、円盤状に剥がれ落ちるため、見た目がざらざらしてまだらになっている。複葉は短い枝や鈍い小枝の先端に集まって生える。下面は淡い緑色で、上面は光沢のある濃い緑色である。

この種は雌雄異株であり、雄木と雌木が別々に存在することを意味する。しかし、自殖性両性具有の木がいくつかの果実の着果が報告されている。雌花は短い小枝の先端に咲き、1~3個の花が房状に咲く。

滑らかな卵形の果実は直径5cmに達することもあるが、通常はその半分程度の大きさである。平均重量は30gが、厳選された樹木では100gに達する果実が実る。果実は熟すと、革のような緑色の皮が淡黄色に変わり、目立たない微細な荒っぽい点が見られる。果肉は白く、多汁である。果肉は大きな核を覆っており、核は通常2つの部屋から成り、各部屋に種子が入っている。

根系はよく発達しており、根は多肉質である。根は水分とデンプンを豊富に蓄え、干ばつなどの厳しい環境にも耐性がある。

分布

Sclerocarya birrea 種は、西はセネガルから北はスーダンとエチオピア、南はスワジランドとナタール州沿岸まで、アフリカ全土に広く分布している。

しかし、園芸上最も注目を集めている特定の亜種 (caffra) は、この分布域の南部、主にボツワナ、モザンビーク、ナミビア、南アフリカ、スワジランド、ジンバブエにのみ自生している。

園芸品種

南アフリカおよび近隣諸国では、最大 100g の大きな果実を生産し、果皮の色が多様な改良品種が数多く知られている。

環境要件

この種は干ばつに非常に強く、暑さ、強い日差し、そして厳しい環境への耐性は伝説的である。

降雨量 一般的に、マルラは乾燥地帯から半乾燥地帯に生息し、降雨量（主に夏季）は 250mm から約 1,000mm の範囲である。南アフリカでは、この植物は降雨量 250mm から 800mm の地域に最も適していると言われている。ボツワナでは、降雨量 400mm から 650mm の範囲で自生している。ナミビアでは、年間 250~350mm が標準である。根は水分を蓄えるため、収穫には現在の結実期よりも前期の降雨量の方が重要になる場合がある。

標高 低~中高度。1,000m または 1,200m に達することは稀である。この上限は、主に冬の霜の強さに

よって決まる。

低温 マルラは、温暖から高温の亜熱帯、熱帯気候で最もよく生育し、実をつけるが、（冬に葉がない時期は）軽い霜には耐える。若い木は霜害を受けやすく、成木であっても気温（「スクリーン」）-4℃で深刻な被害を受ける可能性がある。しかし、霜が降りる地域でも好ましい環境では生育する。

高温 マルラは耐暑性作物で、驚くほど高温に強い。イスラエルの灼熱のアラバ溪谷では、夏の気温が 45℃まで上昇したが、目に見える被害は見られなかった。

土壌 湿地土壌はマルラに適していない。しかし、それ以外では、砂質土壌からローム質砂、砂質粘土（通常は砂質ローム）まで、深く水はけの良い土壌であれば、広範囲に生息する。酸性度は問題ではないようだ。ボツワナでの分析では、13 本の樹木の土壌の pH は 4.7~5.5 でした。アルカリ度も問題ではない。クルーガー国立公園東部の一部では、玄武岩や粗粒玄武岩質の土壌でマルラが優勢になることがある。イスラエルでは、マルラは汽水灌漑（EC 32 dS/m）（汽水；淡水と海水が混じり合った水）に高い耐性を示した。

「精密発酵」で工場生産される
未来の乳・乳製品（その 1）

齋藤 忠夫 (SAITO Tadao)

(東北大学名誉教授)



Key Words: 精密発酵, Precision Fermentation, 細胞農業, タンク培養, 細胞工場, フードテック, バイオテクノロジー, 遺伝子組み換え技術, アニマルフリー, β -ラクトグロブリン (β -Lg), 精密発酵乳

はじめに

国際連合が合意した SDGs（持続的な開発目標）は、2030 年とあと 4 年で期限を迎えます。近年の温暖化により、世界中で干ばつや洪水などの大きな災害がもたらされています。その中で、乳牛や肉牛のゲップなどに含まれるメタンなどの温室効果ガス（GHG）が地球温暖化の大きな原因とされ、気候変動が乳製品の収量を脅かしています。一方では牛乳タンパク質の需要が高まる中、環境への影響を抑えタンパク質の増産が求められています。

2020 年代に入り、牛乳中に含まれる主要なタンパク質をウシの乳腺細胞から作るのではなく、タンパク質遺伝子を導入した微生物の培養により生産するという科学技術が注目されています。そのような技術は「精密発酵」とも呼ばれ、新しいフードテックの一つとして注目されています。この精密発酵による乳タンパク質生産は、従来型の畜産と比較して、土地や水の使用量を減らし、温室効果ガスの排出量も大幅に削減できる可能性があります。この技術では、もはや乳牛を苦勞して育てる必要性がなくなり、巨大な培養タンクでの数日の微生物培養で環境負荷を抑えながら乳タンパク質を生産および供給可能な有効手段として注目されています。多くの調査機関が、精密発酵市場は 2030 年に向けて急拡大すると予測しています。日本では残念ながら精密発酵タンパク質の製造販売は認可されていませんが、基礎研究は進めているようです。

今回は、とくに乳分野で進展している精密発酵の技術とその問題点などについて考えてみたいと思います。解説にあたっては、三井物産戦略研究

所の澤野健史氏の報告書（次世代の食料生産技術「精密発酵」とは -- 業界団結で加速する市場開発 --, 2024）を参考にさせていただきました。

精密発酵とは？

日本バイオ産業人会議の板元雄二氏の解説（生化学会誌, **102** (8) :387-390, 2024）によりますと、「Precision Fermentation」は破壊的なイノベーションに関する提言をするシンクタンクである RethinkX が 2019 年に提唱した語句で、日経クロストrend（2021 年 1 月）が「精密発酵」と初めて紹介したようです。著者もこの日本語訳には違和感を持っている一人ですが、適当な和訳がないのも事実だと思います。

精密発酵は伝統的な微生物を用いての発酵（日本酒やみそ、パン）や微生物の菌体自体を食べるバイオマス発酵とは区別されています。これまでの伝統的な発酵では、微生物の代謝全体を利用して食品の風味や保存性を高めるものでした。精密発酵では、酵母や糸状菌などの微生物に増やしたい目的のタンパク質の遺伝子を入れて培養させることで、特定の有用タンパク質を大量生産させる技術です。この技術は、将来の食料危機や環境問題に対応する新たな食品生産技術として注目されています。また、この技術では微生物の細胞を工場のように機能させるバイオテクノロジーであり、遺伝子組換え微生物は「細胞工場」（Cell Factory）とも呼ばれます。

精密発酵の好例としては、すでに医療分野や食品分野で安全に利用されてきた実績があります。1982 年、医療領域では遺伝子組換え大腸菌による

ヒトインシュリンが製品化されました。1990年、食品分野では大腸菌による遺伝子組換えキモシンが製品化されました。精密発酵による遺伝子組換えキモシン（発酵生産キモシン）は、米国産チーズの約90%の製造に使用されており、日本でも1994年に認可され、広く使用され安全性が確認されています。したがって、精密発酵技術はすでに30年以上も前から始まっている技術なのです。

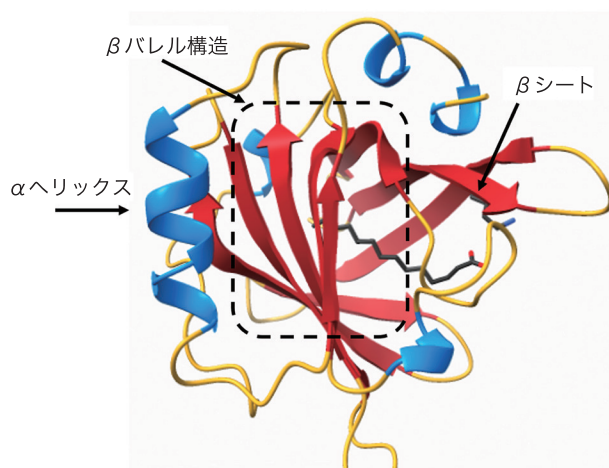
タンパク質の精密発酵では、使用する微生物に対して遺伝子組換え技術を用います。具体的には以下のような工程を経て、目的の物質を生産しています。

1. タンパク質の設計図（DNA 配列）を準備：目的のタンパク質の遺伝子情報を特定
2. 特定遺伝子の微生物への導入：微生物に遺伝子を組み込みます
3. 微生物の培養：タンクの中で微生物を培養して増殖させ、目的のタンパク質を生産
4. タンパク質の単離と精製：微生物と培養液を除去し、目的のタンパク質のみを抽出

タンパク質では、乳タンパク質の精密発酵が最も商業化が進んでいる分野です。

米国パーフェクトデイ社の精密発酵による β -ラクトグロブリン

2020年、米国カリフォルニアのパーフェクトデイ（Perfect Day）社およびベターランドフーズ（betterland foods）社は、世界で初めてホエイタンパク質の「 β -ラクトグロブリン（ β -Lg）」の精密発酵による大量生産に成功しました。タンパク質のDNA遺伝子を微生物（糸状菌：*Trichoderma reesei*）に組み込み、タンク内で大量培養することで、アニマルフリー（動物が関与しない）な乳タンパク質を製造しています。パーフェクトデイ社では、精密発酵で生産された β -Lgを用いることで、従来の生乳と比較して水の使用量を96-99%、エネルギー需要量を29-60%、温室効果ガスの排出を最大97%削減することができるとしています。パーフェクトデイ社は、2019年に米国食品医薬品局FDA（Food and Drug Administration）から安全であるというお墨付きのGRAS（Generally Recognized As Safe）認証を取得したことにより、商圈を米国から香港、シンガポールまで拡大し活発に事業展



出展：National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH3DPX-003641

図 32-1 β -ラクトグロブリン（ β -Lg）の立体構造

開をしています。

ここでは簡単に β -Lgの説明をします。牛乳中のタンパク質の約80%はカゼインであり、残りの約20%はホエイ（乳清）タンパク質です。ホエイタンパク質の約50%と最も多く含まれる成分は β -Lgであり、レチノールを結合運搬してビタミンA代謝に関わるタンパク質です。 β -ラクトグロブリン分子の立体構造を図32-1に示しました。 β -Lgは、162個のアミノ酸残基からなる分子量18.4kDaの球状の小さなタンパク質です。牛乳には含まれますが、母乳（人乳、ヒトミルク）には全く含まれていない成分です。図でも明らかなように、ほとんどが赤色の β シート構造で、青色の α ヘリックス構造はほとんどありません。分子内の β バレル構造（逆方向の β シートが結合して内部に穴のある円筒状の構造）の疎水性ポケットの内部に、レチノールのような疎水物質の補足や輸送などの生理的役割を担っていると考えられています。パーフェクトデイ社が数ある乳タンパク質の中から、なぜ精密発酵に β -ラクトグロブリンを最初に選択したのかは不明です。

2022年、パーフェクトデイの子会社であるThe Urgent Companyは、米国で精密発酵由来の β -Lgを使用した精密発酵乳「Betterland Milk」を発売しました（図32-2a）。米国の小売市場で、乳タンパク質の最も直接的な消費形態となる「牛乳」に精密発酵タンパク質が使用されたことは、画期的な出来事であると受け止められました。この製品は、

図 32-2 精密発酵 β -ラクトグロブリンを使用した精密発酵乳

植物性ミルクよりもクリーミーな味わいで、機能面では牛乳と同じように泡立て、蒸す、ベーキングなどの調理が可能でした。この製品の脂肪は、ひまわり油と中鎖脂肪酸（MTC）のみが含まれ、乳糖（ラクトース）、コレステロール、ホルモンは含まれていません。製品は乳糖フリー、グルテンフリー、ホルモンフリーでコーシャー・パレープ認証を受けています。とくに製品には動物が一切使われていないことより、ヴィーガン食に適しています（ヴィーガンフレンドリー）。

ここで重要なポイントは、精密発酵乳では牛乳中の一部のタンパク質のみが含まれ、乳糖不耐の原因となる乳糖は加えていない点です。この様に、精密発酵乳ではヒトの栄養健康に必要な成分だけを選抜してブレンドすることができ、これまでにない自由な食品設計が可能となります。世界中でいくつかの企業がさまざまな牛乳タンパク質の規制承認を受けていますが、液体牛乳製品を商業化している企業は非常に少ないようです。

パーフェクトデイ社の β -Lg は、ネスレの Cowabunga ブランド（図 32-2b）、米国ニューヨーク州の Tomorrow Farms の Bored Cow シリーズ（図 32-2c）、米国カンザス州の Strive Nutrition 社の FreeMilk シリーズ（図 32-2d）、シンガポールの自社ブランド Very Dairy などの製品に使用されています。精密発酵乳 Bored Cow はチョコレートとバニラとストロベリーフレーバーのラインアップ

で、カルシウム、ビタミン B₁₂、ビタミン D、カリウムのすべて含まれますが、総糖分はゼロ（乳糖フリー）、コレステロール、グルテン、ナッツ、動物ホルモンも含まれていません。精密発酵乳 FreeMilk には 10g の β -Lg が添加されており、乳糖フリーです。さらに興味深いのは、オーツミルクとアーモンドミルクを好む消費者には、それぞれ β -Lg が添加され、植物性と動物性のタンパク質が共存するタンパク質組成になっている点です。

The Urgent Company 社は、パーフェクトデイ社の乳タンパク質を使用して乳製品のアイスクリームブランドの Brave Robot、クリームチーズブランドの Modern Kitchen、およびプロテイン粉末ブランドの California Performance Co と Moolessなどを展開しています（図 32-3）。このように、精密発酵ホエイタンパク質は、ヨーグルトやアイスクリームなどの乳製品に利用され、従来植物性原料だけでは再現が難しかったヨーグルトの滑らかさ、アイスクリームのコクなどを実現しています。また、Brave Robot アイスクリームでは、従来の乳製品製造方法で作られたアイスクリームと比較して、温暖化ガスの 72% を削減、非再生可能エネルギーを 61% 減少、水量は 23% 減少させるとしています。米国では、同社の製品がスーパーマーケットで販売されており、米国に留まらず香港、シンガポール、インドとその市場が広がっています。

パーフェクトデイ社を筆頭に、イスラエルの



クリームチーズスプレッド
(Modern Kitchen)



アイスクリーム
(Brave Robot)



粉末ホエイタンパク質
(California Performance Co Mooless)

図 32-3 精密発酵 β -ラクトグロブリンを用いた乳製品

リミルク (Remilk) 社およびイマジンデイリー (Imagindairy) 社、オランダのヴィヴィチ (Vivici) 社も同様に β -Lg を精密発酵で生産し、最終用途を乳製品と考えたビジネス展開をしています。

Remilk 社は、精密発酵 β -Lg とココナッツ脂肪、糖、酸度調整剤、フレーバー、安定剤、塩、乳化剤を組み合わせ、The New Milk を製造販売しています (図 32-2e)。この精密発酵乳はカルシウム、ビタミン D と E および食物繊維を強化しています。この製品では、従来の牛乳生産に比べて温室効果ガスを最大 97% 減少させ、土地も 99% 少なく、水も 90% 以上少なく生産することができるとしています。

各企業がどのような微生物を使用しているのは企業秘密の未公開菌株が多いのですが、Vivici 社製の β -Lg は 2025 年米国の GRAS 認証を受け、精密発酵微生物に酵母: *Komagataella phaffii* (コマガタエラ ファフィー) を使用していることが分かり

ました。この酵母は、植物性肉類に色や風味を与える植物性ヘムタンパク質である大豆レグヘモグロビンの精密培養でも利用されているようです (米国 Impossible Foods 社)。このように、同じ β -Lg でも精密発酵で使用する微生物は糸状菌 (Perfect Day 社) や酵母 (Vivici 社) など企業により異なっていることも特徴の一つだといえます。

最近では、「細胞農業」ともいわれるこのフードテックは、既存の広大な土地や飼料、水を必要とし、感染症や異常気象などの突発事象の影響を受ける既存の生産システムと異なり、精密発酵由来のタンパク質は施設内で年間を通して生産が可能であるため、環境負荷を抑えつつ安定した供給が可能となるとされています。シンクタンク RethinkX は、「精密発酵の拡大により 2030 年までに米国の乳牛数は半減し、乳製品と畜産業は崩壊するだろう」という大胆な予測もあるようで、競争の激化が予想される分野です。

(その 2 に続く)

ミルク

至高の食品がわかる

伊藤 敏敏 著

■A5 版 / 156 ページ

■定価：(1900 円 + 税)

■発行：エヌエフアイ

ミルク

至高の食品がわかる

伊藤 敏敏 著



本書はミルクについて平易に解説された専門書です。著者が日本大学生物資源科学部において教鞭を執られていた際に執筆し、教科書としてヒューマンウィングスより発刊していましたが、本書が教科書だけでなく広く牛乳・乳製品工場の技術者の再勉強にも役立つ参考書としても増刷しエヌエフアイより発刊いたしました。

まえがきより

世に出ている牛乳の科学や製造学の参考書の多くは、堅くて難しくてすぐに頭の痛くなるような専門書か、一般読者向けの啓蒙書でも、ことさら健康的価値や機能性などばかりを取り上げたものが多く、また一方では、牛乳は体に有害であるかのごとく書かれた本までが出回る有様で、ミルクの本当の姿をじっくりと知りたい者にとっての適書が見当たりません。本書はその要求を満たすものとして、一般読者にもよく解るように、また大学の教科書としても使えるように、さらには牛乳・乳製品工場で働く技術者の再勉強にも役立つようにと考えて書いたものです。この本を通してミルクに関する理解が少しでも増えて、食材としての価値がもっと見直されることを願うものです。

第1章 ミルクの科学的特性 一秘められた力

1. ミルクは食糧として作り出される唯一の天然物
2. 牛乳、母乳その他の動物の乳はどのように違うのだろうか
3. 乳はなぜ白いのだろうか
4. 乳の成分の特性とそのパワー
5. 牛乳の構成成分のまとめ
6. 牛乳のアレルギー性
7. 乳児用調製粉乳はどこまで母乳の代用になるか
8. 牛乳に人の免疫力を付けられるか
9. 特定保健用食品（機能性食品）は乳の研究から生まれた
10. 牛乳はどのようにして作られるか（餌が牛乳にかわるまで）
11. 牛乳成分の含量はいつも同じなのだろうか

第2章 乳製品の知識と製造の基本原則

1. 日本ではどの位の牛乳・乳製品が食べられているのだろうか
2. 農家で搾った牛乳が工場に入るまで
3. 牛乳・乳製品の分類と規格
4. 牛乳の加熱殺菌について
5. 牛乳の均質化処理（ホモジナイズ処理）
6. 発酵乳と乳酸菌
7. チーズ
8. バター
9. アイスクリーム
10. 濃縮乳（練乳、コンデンスミルク、エバミルク）
11. 粉乳

■著者／伊藤 敏敏（いとう たかし）

◆農学博士

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

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

現代チーズ学

PDF版

編 者

齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科

堂迫 俊一 雪印乳業株式会社 技術研究所

井越 敬司 東海大学農学部

■定価：(本体4,500円+税)

現代チーズ学 目次

1. チーズの歴史、食文化、分類および生産

- 1.1 チーズの起源と歴史 大谷 元
- 1.2 チーズの食文化 村山 重信
- 1.3 チーズの分類と名称 村山 重信
- 1.4 世界のチーズの生産・輸出入と消費 伊藤 晋治

2. チーズの基礎科学

- 2.1 乳の成分科学 石田 光晴
- 2.2 チーズ製造の基本フロー 齋藤 忠夫
- 2.3 乳酸菌スターターの科学 宮本 拓
- 2.4 キモシンによる凝乳機構 阿久澤良造
- 2.5 チーズの熟成機構 井越 敬司

3. チーズの製造技術と衛生管理

- 3.1 クリームチーズ 岩附 慧二
- 3.2 モッツアレラチーズ 橋本 英夫
- 3.3 カッテージチーズ 久米 仁司
- 3.4 熟成型チーズ 田中 穂積
- 3.5 キモシン酵素利用の現状 高見 修平
- 3.6 プロセスチーズ 川崎 功博
- 3.7 チーズの包装技術 佐々木敬卓
- 3.8 チーズ製造の衛生管理 柳平 修一
鈴木 明
花形 吾朗

4. チーズの機能性

- 4.1 チーズの微細構造 木村 利昭
- 4.2 一次機能 根岸 晴夫
- 4.3 二次機能 井筒 雅
- 4.4 三次機能 堂迫 俊一
- 4.5 チーズとホエイに含まれるタンパク質の免疫科学 大谷 元

5. ホエイ成分の高度利用

- 5.1 チーズホエイとその成分別調製技術 元島 英雅
野畠 一晃
- 5.2 機能性オリゴ糖 浦島 匡
- 5.3 機能性ホエイ味噌 六車三治男

6. チーズの諸制度と知的財産権

- 6.1 チーズの規格基準と表示規制 石田 洋一
- 6.2 チーズの知的財産権 工藤 力

7. 近未来のチーズ学

- 7.1 チーズ製造技術の変遷と進歩 相澤 茂
- 7.2 近未来のチーズ製造技術 市橋 信夫
- 7.3 新しいタイプの機能性チーズの開発 松尾 光郎
- 7.4 スターター乳酸菌における遺伝子組換え技術の応用 佐藤 英一

FAXでのお申し込みは 042-312-0845 Mailでのお申し込みはinfo@nfi-llc.co.jp

<https://newfoodindustry.secsite.jp> e-mail:newfood@newfoodindustry.com

ニューフードインダストリー 第68巻 電子版8月号

New Food Industry Vol.68, No.8 2026. (e-book)

発行 令和 8 年 8 月 1 日
発行人 渡邊 力
編集人 今西 和政

発行所 エヌエフアイ合同会社
〒185-0011 東京都国分寺市本多2-15-18-103
TEL:042-312-0836(代表) FAX:042-312-0845
銀行振込口座 三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814
多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817
郵便振替口座 ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

定 価 2,750円 本体2,500円

New Food Industry 投稿規定

1. 本誌 New Food Industry は、食・医薬に関する原著論文、総説、ノート、解説、特集原稿、国内新製品紹介、海外レポート、随想および各種研究会案内等を掲載します。
2. 投稿原稿は、日本語または英語を標準とし、欧語は使用しないでください。

和文原著論文、総説、ノート、解説には、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、次に英文タイトル、著者名、所属機関名（所在地）をつけ、本文の前に必ず7つ以内のキーワード（英語と日本語）を加える。原著論文、総説、ノートには、400単語程度の英文 Abstract をつけます。また、総説、解説等については出来れば Graphic abstract で本文の概要を説明してください。

英文原稿には、7つ以内の英語のキーワード、末尾に、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、7つ以内の和文キーワードおよび和文要約を書き入れてください。
3. 原著論文、および総説、ノートについては編集委員会にて査読者を選出し査読を行います。（随想、解説、特集等に関しては各著者の責任において発表する。）

査読される原著論文は、未発表の新規知見を含み食・医・薬の発展に寄与するものとし、ノートは、その内容が業界の発展に寄与する短報とします。総説はすでに発表されたもので新たに加筆、修正をし、最新の知見に基づいた機能、官能評価、開発のための価値の高い研究論文などを対象とします。また、研究論文の著者が複数の場合、その責任者（研究室長・教授）等の責任において発表するが査読希望の場合に限り査読を行います。

原稿の取扱いは、編集委員会に一任され、査読を行う原稿は、編集委員会の判断で査読者を2人以上選出し掲載可の判断がされた後、編集委員長の正式受理通知を送信、編集作業にかかります。
4. 原稿はすべて A4 ワードドキュメントに、和文は横書きで 40 字 × 35 行、英文の場合は 72 字 × 35 行を標準とします。
5. 論文の長さは、原著論文では 8 ～ 12 頁（ワード頁で 10 ～ 20）以内、ノートでは 8 頁以内とします。
6. 和文原稿はひらがな、新仮名遣いとし、物質名や学術用語などに対して欧語を用いないこと。研究に用いた機器試薬名は一般名と商標登録名、メーカー名、所在地を記載します。
7. 本文および文献中の学名やジャーナル名はイタリック、ジャーナルの巻数はボールドとします。
8. 図・写真・表並びに説明文は、別稿で提出してください。
9. 図表の挿入希望位置は、原稿欄外に指示してください。
10. 数字はすべてアラビア数字を用い、数量の単位は SI 単位を基本とする。単位および述語の略字例は次の通り。
km, m, cm, mm, L, mL, kg, g, mg, mol, mmol, mM, pH, b.p., f.p., MW, V, A, N, M, Rf 等
11. 引用文献は、本文中での引用順に片括弧付きの上付き番号を付して記載します。
12. 引用文献リストは、本文の後に番号順にまとめて記載します。
13. 原稿の校正は、初校・再校・三校まで著者が行い、大幅な修正、加筆は不可。
14. 掲載された論文は、論文公開検索システム等に採択されます。掲載論文の著作権は、エヌエフアイ合同会社に帰属します。
15. 掲載された論文は、頒布、著者 HP で公開をしてもよい。
16. 掲載された論文の、有償別刷り（100 部以上）を希望する場合は版元に依頼をしてください。



New Food Industry

エヌエフアイ合同会社

本社：〒185-0011 東京都国分寺市本多2-15-18-103
電話 042-312-0836 FAX 042-312-0845