

# ILSI JAPAN

2019

No.  
138

- 食品の機能性の現状と将来について  
森永製菓株式会社 研究所 健康科学研究センター センター長 守田 稔
- Japan-EU Economic Partnership Agreement: Sanitary and Phytosanitary Measures and Food Safety Aspects  
Second Secretary, Trade Section, Delegation of the European Union to Japan  
Nora Matei
- 高温嫌気性芽胞菌 *Moorella thermoacetica* 芽胞に対する脂肪酸エステル作用  
前・財団法人東洋食品研究所 主席研究員 青山 好男
- 「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」の科学的根拠（エビデンス）  
早稲田大学 スポーツ科学学術院 澤田 亨
- 脳機能を支える身体活動と栄養  
首都大学東京大学院 人間健康科学研究科 スポーツ神経科学研究室 西島 壮
- 生活習慣と腸内細菌叢  
川崎医療福祉大学 医療技術学部健康体育学科 矢野 博己
- 異所性脂肪とインスリン抵抗性  
順天堂大学大学院医学研究科 代謝内分泌内科学・スポーツロジックセンター  
順天堂大学国際教養学部 グローバルヘルスサービス領域 田村 好史
- 生ビール製造における微生物検査法の開発  
アサヒグループホールディングス株式会社 グループ食の安全研究所 鈴木 康司  
アサヒビール株式会社 酒類技術研究所 浅野 静
- 安全性・体内動態評価に向けた Organ-on-a-chip の開発  
京都大学 白眉センター 工学研究科マイクロエンジニアリング専攻 鳥澤 勇介
- < 研究所紹介 >  
株式会社 明治 「明治イノベーションセンター」  
株式会社 明治 研究本部研究戦略統括部研究管理部専任部長 中村 博文
- FAO/WHO 合同食品規格計画  
第 40 回コーデックス栄養・特殊用途食品部会報告
- ILSI 2019 本部総会報告
- 特定非営利活動法人国際生命科学研究機構  
平成 31 年通常総会の報告



特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構

International Life Sciences Institute Japan



# イルシー ILSI JAPAN

## 目次

食品の機能性の現状と将来について .....	1
守田 稔	
Japan-EU Economic Partnership Agreement: Sanitary and Phytosanitary Measures and Food Safety Aspects .....	4
NORA MATEI	
高温嫌気性芽胞菌 <i>Moorella thermoacetica</i> 芽胞に対する脂肪酸エステルの作用 ...	10
青山 好男	
「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」の科学的根拠（エビデンス） ...	22
澤田 亨	
脳機能を支える身体活動と栄養 .....	29
西島 壮	
生活習慣と腸内細菌叢 .....	34
矢野 博己	
異所性脂肪とインスリン抵抗性 .....	42
田村 好史	
生ビール製造における微生物検査法の開発 .....	50
鈴木 康司 / 浅野 静	
安全性・体内動態評価に向けた Organ-on-a-chip の開発 .....	59
鳥澤 勇介	

＜研究所紹介＞

株式会社 明治 「明治イノベーションセンター」 .....	68
中村 博文	

FAO/WHO 合同食品規格計画

第 40 回コーデックス栄養・特殊用途食品部会報告 .....	74
江原 達弥	

ILSI 2019 本部総会報告 .....	85
総会出席者	

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構

平成 31 年通常総会の報告 .....	101
俵積田 亨	

会報

I. 会員の異動 .....	103
II. ILSI Japan の主な動き .....	103
III. 発刊のお知らせ .....	107
IV. ILSI Japan 出版物 .....	108



# イリシー ILSI JAPAN

## CONTENTS

<b>The Present and Future of Functionality of Foods in Japan</b> .....	1
MINORU MORITA	
<b>Japan-EU Economic Partnership Agreement: Sanitary and Phytosanitary Measures and Food Safety Aspects</b> .....	4
NORA MATEI	
<b>Action of Fatty Acid Esters on Thermophilic Anaerobic Spore-forming Bacteria <i>Moorella thermoacetica</i> Spores</b> .....	10
YOSHIO AOYAMA	
<b>Evidence of Physical Activity Guideline (Active Guide) for Health Promotion</b> .....	22
SUSUMU S. SAWADA	
<b>Physical Activity and Diet for Brain Function</b> .....	29
TAKESHI NISHIJIMA	
<b>Knowledge of Gut Microbiota for a Healthy Lifestyle</b> .....	34
HIROMI YANO	
<b>Ectopic Fat and Insulin Resistance</b> .....	42
YOSHIFUMI TAMURA	
<b>Development of Microbiological Quality Control Methods in Unpasteurized Beer Production</b> .....	50
KOJI SUZUKI / SHIZUKA ASANO	
<b>Organ-on-a-chip Microdevices for Drug Efficacy and Toxicity Testing</b> .....	59
YU-SUKE TORISAWA	

**<Research Institute of ILSI Japan Members>**

<b>Meiji Co., Ltd. “Meiji Innovation Center”</b> .....	68
HIROFUMI NAKAMURA	

<b>Report of the 40th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses</b> .....	74
TATSUYA EHARA	

<b>Report from ILSI Annual Meeting 2019</b> .....	85
Participants of Annual Meeting	

<b>ILSI Japan General Meeting 2019</b> .....	101
TORU TAWARATSUMITA	

**From ILSI Japan**

<b>I . Member Changes</b> .....	103
<b>II . Record of ILSI Japan Activities</b> .....	103
<b>III . ILSI Japan’s New Publications</b> .....	107
<b>IV . ILSI Japan Publications</b> .....	108

# 食品の機能性の現状と将来について

森永製菓株式会社  
研究所 健康科学研究センター  
センター長

守田 稔



ご存知の通り、食品には1次機能、2次機能、3次機能があるといわれており、1次機能はいわゆる栄養的な機能であり、食品の栄養素としての役割を示しています。2次機能は、嗜好的な機能であり、美味しいとか見栄えが良いとかの人の感覚に対する機能です。最後に食品の3次機能とは、生体調節機能と呼ばれており、文字通り人の身体機能を調節する機能であり、この機能を発揮する成分を機能性成分と呼んでいます。一般に、人は食に最初に1次機能を求め、ついで2次機能を要求し、これらが満たされると、機能性である3次機能を求めると言われています。

現在は、食の1次機能や2次機能は満たされており、人々は3次機能に注目している時代と言えます。

このような時代において、日本で食品の3次機能、つまり機能性に大きな注目が集まりはじめたのは、「特定保健用食品（トクホ）」と「栄養機能食品」が1991年に制度化されてからであると言っても過言ではありません。このトクホは1993年に株式会社資生堂の「ファインライス」と森永乳業株式会社の「低リンミルク L.P.K.」がトクホとして初めて認可されて以来、2015年には1,500品を超える品目が認可登録されました。しかしながら、「トクホ」の審査は厳しく、表示許可取得に関わる費用と時間がかかり過ぎることが問題と言われていました。

この状況下に、2013年、規制改革会議より答申を受け、規制改革実施計画として閣議決定されたのが「一般健康食品の機能性表示を可能とする仕組みの整備」です。これを受け、消費者庁は2015年4月より「機能性表示食品」の制度を開始しました。これを受けた最初の製品として、2015年6月からライオン株式会社の「ナイスリムエッセンス ラクトフェリン」が発売されました。本制度では、トクホに比べて受理までの費用と時間が大きく軽減されたことから、一気に受理された機能性表示食品が増加しています。先ほどの、トクホ、栄養機能食品とこの機能性表示食品の3つをまとめて、保健機能食品と呼ばれています。

2019年2月現在、1,700品目以上の機能性表示食品が受理されており、これは2015年に制度が始まってわずか4年での実績であり、大きく健康食品市場を活性化しています。一方、トクホは2015年に1,500品目が表示許可されていましたが、2019年1月現在1,000品目強となり、機能性表示食品に押されてか、ずいぶん品目を減らしてきています。

しかしながら、売上を比較すると2018年のトクホの市場規模は約6,500億円であり、同じく機能性表示食品の市場規模が約2,000億円であることから、トクホの市場規模が機能性表示食品の3倍以上となっており、トクホ1品の売上が非常に大きいことがわかります。トクホ

The Present and Future of Functionality of Foods  
in Japan.

MINORU MORITA  
General Manager  
Health Science Research Center  
R&D Institute  
MORINAGA & CO., LTD.



は、先ほども記しましたが、費用と時間がかかるので売上が大きな商品でないと取り組めないことが一つの要因でしょう。その分、気楽に取り組むことができる機能性表示食品は、売上が大きくない商品でも取り組めることが大きなポイントになります。

トクホは、国が審査して許可したもののだけが表示できる制度でしたが、機能性表示食品は、発売前の事前届出制であり、事業者の責任において「体のどの部分にいいのか」「どう機能するのか」を表示できます。安全性についても同様で、事業者が、自分で調べ、担保する必要があります。本来、機能性表示食品の届出は、その商品の販売 60 日前までに安全性及び機能性の根拠に関する情報を消費者庁長官へ届出すればよいのが建前ですが、安全性等を担保するためということで、実際には届出の受理はなかなかされない状況にあります。しかし、2017 年以降は、規制改革推進会議からの要請により、改善されてきており、提出後 55 日以内にレスポンスをすることになり、大きく短縮化されてきています。これと合わせ、この制度が施行させてから数年経ったことで、書類の書き方などの機微が事業者側で理解されてきたことから、受理件数は増加傾向にあります。

機能性表示食品では、実際に製品を用いてヒト臨床試験をする必要はなく、同じ機能性関与成分であれば、その成分を含有する原料の同等性を合理的に説明すれば、同じ成分を含有する他の原料での届出を流用して届け出ることができます。また、既に公開済みの査読付きの報文を根拠にレビューを行い届け出することも可能です。

そのためか、同一の成分の機能性に関するレビューを機能性表示の根拠にしたものも非常に多く、例えば、難消化性デキストリンを成分とした機能性表示食品は 211 件、GABA で 81 件あります。これは、ある成分が届出受理されると、その届出をベースに別の事業者の届出も、容易に受理されるようになり、そのため効果的な機能性を表示できた成分に複数事業者の届出が集中する傾向にあるからです。また逆に、ある成分の届出が一旦、不適合のため撤回されると、引き続いて何件も撤回される傾向があります。例えば、グルコサミンでは、11 社 18 件が撤回されており、HMB では 9 社 11 件が撤回に至っている事例が挙げられます。

このように機能性表示食品の同質化が進む中、差別化を目的にその事業者独自の新たな機能性成分で機能性表示食品を届け出る事業者も増えてきています。今までは、

同一原料サプライヤーから供給された同一機能性成分を基に製品設計をして、届出を行っていることが多いため、横並びにならざるを得ないのが現状でしたが、それを脱して、独自の機能性をうたい、差別化を図ろうとの目的と考えられます。これは、特に成分本体が乳酸菌の分野で多く見かけられます。現在、乳酸菌の機能性表示食品の届出数は 140 件となっています。

乳酸菌を独自成分とした届出数が多いことは、乳酸菌はトクホで数多く表示許可されており、今ではプレーンヨーグルト分野において、非常に多くの商品がトクホマークを取得している現状があることと関係があると考えられます。そのため、乳酸菌を研究しやすい下地があるうえ、乳酸菌は独自の菌株を取得しやすく真似されにくく、そのため差別化もしやすい傾向があります。さらに、乳酸菌は機能性自体も多く、主力となる整腸作用のほか、感染防御、免疫賦活、免疫抑制、瘦身作用、脂質代謝改善などがあります。また、乳酸菌を扱う乳製品メーカーだけでなく、近年、大手食品メーカーが乳酸菌分野に参入していること、乳酸菌は消費者のイメージもよいことも大きな理由と考えられます。

機能性表示食品の特徴の一つとして、生鮮食品の届出も可能であり、先にも記したように、既知の論文をベースにレビューを行い、機能性表示された生鮮食品が届け出されていることが挙げられます。2019 年 1 月までの届出数は、ミカンで 11 件、リンゴで 1 件、もやしで 5 件、トマトで 2 件、ケールで 1 件、ホウレンソウで 1 件の合計 21 件となっています。機能性表示食品の制度は、徐々に運用で改善されてきており、本制度を利用した生鮮食品も増加していくものと推察されます。

さて、食品表示法では、全ての飲食物のうち、薬機法で規定する医薬品および医薬部外品を除いたものを食品として定義しており、その表示は食品表示法に定められています。しかしながら、特別用途食品は、食品表示法から外れた食品となっています。特別用途食品とは健康増進法に基づき、通常の食品では対応が困難な方、すなわち乳児の発育、妊産婦、授乳婦、えん下困難者、病者などの健康の保持・回復などに適するという特別の用途の食品である旨の表示を行う食品と定義されています。実はトクホもこの特別用途食品に含まれており、少々ややこしいことになっています。トクホを除いた特別用途食品は、保健機能食品には分類されませんので機能性はないと思いますが、一部の病名を使用に適した用途として

表示できるというのが「特別用途食品」の制度です。例えば、「ウイルス性の感染性胃腸炎による下痢・嘔吐・発熱を伴う脱水状態における水分・電解質の補給に適しています。」などと表示されています。残念ながら、この制度での許可品目は全部で57件と非常に少なく、あまり活用されているとは言えない状況です。2018年4月以降に、特別用途食品の新たな区分や基準の見直しを消費者庁へ要望することができるようになったことから、使いやすい制度になっていくものと思われます。一部の特別用途食品では、上手く機能性を標ぼうしている製品もあり、今後はそのような商品もわずかずつではありますが増えてくるものと思われます。

最後に、ILSI Japanは、その目的に「健康や栄養に関わる課題に対して、信頼ある科学に基づいて、人々の栄養と健康の増進、食の安全の確保、環境の改善に寄与することを目的としている」とあります。この食品の3次機能である機能性について、ILSI Japanの果たすことができる役割は大きなものとなると感じています。

しかしながら、あまりにも食品の3次機能に着目するあまり、肝心の1次機能がおろそかになってしまい、いわゆる「新型栄養失調」に陥る可能性があります。このようなことに陥らないように啓発することも私たちの役割かもしれません。

## <参考>

消費者庁ホームページ、農林水産省ホームページ、厚生労働省ホームページ

## 略歴

### 守田 稔(もりた みのる)

- 1990年 岐阜大学農学研究科農芸化学専攻修士課程 修了
- 1990年 雪印乳業株式会社 技術研究所
- 1999年 Hamburg 大学 化学研究所 留学
- 2004年 株式会社コカ・コーラアジアパシフィック研究開発センター
- 2006年 森永製菓株式会社 研究所
- 2011年 森永製菓株式会社 ウイダーマーケティング部
- 2015年 森永製菓株式会社 研究所
- 2017年 森永製菓株式会社 健康事業本部 研究開発部
- 2018年 森永製菓株式会社 研究所 健康科学研究センター



# Japan-EU Economic Partnership Agreement: Sanitary and Phytosanitary Measures and Food Safety Aspects

Second Secretary  
Trade Section  
Delegation of the European Union to Japan

Nora Matei



## Summary

This article is based on a presentation given during IFIA 2018 exhibition on 17 May 2018 in Tokyo. While the focus of the presentation was on the food safety issues pertaining to the EU-Japan Economic and Partnership Agreement ('EPA') signed by the EU and Japan on 17 July 2018 and effective since 1 February 2019, this article outlines the scope of sanitary and phytosanitary ('SPS') measures foreseen in the EPA, of which food safety represents one important component.

## 1. Food Safety Policy in the EU

Achieving the highest standards of food safety in the EU has been a key policy priority for the European Commission throughout the past years, designed to guarantee safe food with clear information on the origin, content/labelling and use of food. The origin of the food safety policy in the EU can be traced back to '90s. The first actions<sup>1)</sup> adopted in 2000 towards setting out a radical food safety reform plan were outlined with a view to improve and bring coherence to the EU legislation. The guiding principle was that food safety

policy must be based on a comprehensive and integrated approach. This means that all food and feed produced and sold in the EU should be traced from 'farm to fork' and consumers should be well informed on the content of their food. This was followed by the adoption of the **General Food Law** ('GFL') in 2002<sup>2)</sup> covering the whole agri-food sector and all stages of production, processing and distribution of food and feed, which created an EU food safety system in which responsibilities for risk assessment (science) and for risk management (policy) are kept separate. The basic principles for EU food policy defined therein covered: risk analysis, through (i)

1) *Source*: European Commission White Paper on Food Safety, COM(1999) 719 final

2) Regulation (EC) 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety

risk assessment which must be based on the available scientific evidence and undertaken in an independent manner, (ii) risk management through adoption of provisional risk management measures when the possibility of harmful effects on health is identified but scientific uncertainty persists (*'precautionary principle'*), and (iii) risk communication defined as the interactive exchange of information and opinions throughout the risk analysis process as regards hazards and risks, risk-related factors and risk perceptions amongst risk assessors, risk managers, consumers, etc. Other principles refer to open, transparent public consultation and clear communication (*'principle of transparency'*) throughout the decision-making cycle, the right of the public to be informed where there are reasonable grounds to suspect that a food may present a risk to health (*public information*), as well as the requirement that international standards must be taken into account in the development of EU food law, where relevant.

The establishment of the European Food Safety Authority ('EFSA') in 2002 having particular responsibilities for both risk assessment and communication of food safety issues came in response to the need for a scientific based approach towards solving the weaknesses identified in the system at that moment in time, such as the need for the best scientific support for the system of scientific advice, need for better monitoring of food safety issues, need for a rapid alert system and strengthening of coordination of scientific cooperation. EFSA was set up as an independent body that carries out risk assessments before certain foods are allowed to be marketed in the EU, provided scientific advice to the European Commission and EU countries to help them take effective decisions to protect consumers. It also plays an essential role in helping the EU respond swiftly to food safety crises.

An assessment (referred to as the *Fitness Check*) of the General Food Law to establish whether the law is

'fit for purpose' for the entire food/feed sector and whether it still captures and reflects current policy trends was launched in 2014 and concluded in January 2018<sup>3)</sup>. The results of this assessment suggested *inter alia* that the law needed boost in order to address new challenges such as food sustainability in general, and specifically food waste.

In April 2018 the European Commission proposed a targeted revision<sup>4)</sup> of the GFL Regulation, which draws on the results of the Fitness Check. Inter alia it aims to improve the transparency of scientific studies in the food safety area, as well as to strengthen the risk communication to citizens. The proposal is to amend, in addition to the GFL Regulation, 8 sectorial legislative acts dealing with the food chain: GMOs (cultivation and for Food/Feed uses), feed additives, smoke flavourings, food contact materials, food additives, food enzymes and flavourings, plant protection products and novel foods. For a swift implementation, adoption of the proposal is expected by mid-2019.

## 2. SPS measures in the EU-Japan EPA

EU and Japan together account for around 30% of the world GDP and 37% of world trade. Japan is one of the EU's top strategic and trade partners. For agriculture Japan is the fourth biggest market for EU agri-food exports. 85% of EU agri-food products exported to Japan will be liberalised over time.

The EU-Japan EPA creates new opportunities for agricultural exports, removing the existing tariffs on products such as cheeses or wines, while protecting intellectual property rights. The measures put forth by the EPA also aim at reducing non-tariff barriers that businesses face when trading agricultural products.

The EPA includes SPS measures that ensure food safety and animal and plant health, which are in line

3) Commission Staff Working Document Executive Summary of the REFIT Evaluation of the General Food Law (Regulation (EC) No 178/2002) - SWD(2018) 37 final

4) Proposal for a Regulation of the European Parliament and the Council on the transparency and sustainability of the EU risk assessment in the food chain - COM (2018) 179 final-2018/088 (COD)

with the World Trade Organisation ('WTO') SPS principles, and make reference to the precautionary principle and respect of international standards (Codex Alimentarius principles). These apply to all SPS measures in Annex 1A under the World Trade Organisation ('WTO') Agreement, while taking into consideration the glossaries and definitions developed by the Codex Alimentarius Commission, the International Office of Epizootics ('OIE') and the relevant international organizations operating within the framework of the International Plant Protection Convention ('IPPC'). As such, food safety represents only one part covered by the SPS measures in the EPA.

The agreement does not prevent either party from taking measures to protect human, animal or plant health or life. This means effectively that the agreement will not affect European or Japanese levels of protection for food safety or animal and plant health and that all products imported from EU into Japan need to comply with Japan's standards and vice versa.

### 3. SPS Rules in the EU-Japan EPA - expectations from consumers in the EU and Japan

Under the EPA the EU and Japan have agreed on multiple provisions to address divergent standards and technical requirements, burdensome conformity assessment procedures and administrative issues. These should help both EU and Japanese exporters access the market of the other party. The provisions in this chapter aim to ensure that market access is not undermined by unjustified SPS trade barriers and to improve predictability of trade for all agricultural products.

Specifically, the EU and Japan have agreed to ensure

that any import procedures including the approval and clearance process are simplified, expedited and completed without undue delay and are not applied in a manner which could constitute an arbitrary or unjustified discrimination against the other party. It has also been agreed that (i) the standard processing period of each procedure is published or anticipated processing period is communicated to the applicant upon request, and that (ii) information requirements are limited to what is necessary for appropriate control, inspection and approval procedures, including for the approval of additives or for the establishment of tolerances for contaminants in food, beverages or feedstuffs. As regards **food additives**, the approval process and the requirements for assessment of an application have become more transparent. Both Parties have also committed to publish the timelines for the approval of food additives.

Furthermore, the SPS Chapter promotes the **auditing system** for attaining and maintaining confidence in the effective implementation of each other's control systems and clarifies the communication process (i.e. audit reports and the possibility to formulate comments on the report).

The Parties have in addition agreed on ways to help encourage the **facilitation of establishments receiving authorisation to export to the other party**. This is consistent with the principle called "**pre-listing**"<sup>5)</sup>.

Furthermore, the EU and Japan have agreed to **apply zones or compartments established for disease-free areas in case of outbreaks for animal diseases in their trade**. Both parties have committed to exchange on the way to establish and maintain **a mutual recognition of health status**.

As regards **plant health**, EU Japan EPA recognises

---

5) The EU applies the provisions of Regulation (EC) No 854/2004 to all third countries from which imports of animal products into the EU are authorised. In accordance with Article 11 of this regulation, a third country is authorised to export to the EU after providing sufficient guarantees that its exports meet the EU level of sanitary protection following EU audits on-the-spot. Subsequently, if the competent authority in the exporting country sees that an establishment meets the relevant EU import conditions, it can place the establishment on a list (often termed a "*pre-list*") of exporting establishments that meet relevant EU conditions. This list is subsequently proposed to the European Union and thereon serves as a list of establishments from which EU Member States are authorised to import.

the concepts of pest free areas, pest free places of production and pest free production sites as well as areas of low pest prevalence areas and protected zones which they agree to apply in their trade. To this end, the Parties will also ensure that the procedures and provisions for establishing or maintaining sanitary and phytosanitary related import conditions are carried out without undue delays.

Under the EPA, Japan and EU commit to ensure **transparency** on import conditions and control, inspection and approval procedures including details about mandatory administrative steps and expected timelines. This facilitates the parties' application process and ensures that companies and authorities have better access to information that could have a potential negative impact on trade.

Last but not least, Japan and the EU have agreed to establish a joint SPS committee as well as other channels of communication, in order to deal with SPS issues timely and efficiently.

Following the entry into force of the EU-Japan EPA, market authorisation procedures are simplified, expedited and completed without undue delay without compromising food safety.

### 3.1 Harmonisation of requirements on regionalisation for animal diseases with international recommendations and standards

Japan and the EU agreed on how to address regionalisation<sup>6)</sup> principles for animal diseases in the SPS Chapter of the EPA. Both Parties are committed to work together in achieving mutual recognition of regionalisation and reaffirmed their commitment that their measures will be based on the OIE standards and recommendations or relevant scientific evidence. EU and Japan are negotiating a mutual recognition agreement of

regionalisation decisions for priority diseases, as such mutual recognition for African Swine Fever (ASF), Avian Influenza (AI) and Foot-and-mouth Disease as a priority.

### 3.2 EU beef market access applications

Insufficient harmonisation on conditions for import of bovine meat and other bovine products with international standards (i.e. OIE) on Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) was one of the NTMs under the EU-Japan EPA negotiation. For example, EU Member States which have equal OIE status are not treated in the same manner and Japan's import conditions do not reflect the conditions under OIE for corresponding risk categories. Japan has been assessing the applications of those EU Member States which have requested market access in a steady manner. It will be important that both parties continue their efforts to take appropriate steps in order to expedite the procedure.

## 4. SPS – Impact on Non-tariff Measures

Although the market in Japan has been low on tariffs, it features significant non-tariff measures (NTMs), including in the SPS area. These refer to standards, approval procedures, conformity checks, which sometimes can be legitimate measures taken by governments, but which can also be seen as deliberate obstacles to trade when they impose costs for businesses and authorities. A number of NTMs in the SPS area have been dealt with during the EPA negotiations, some of which are described in more detail below.

### 4.1 Maximum Residue (MRLs) for agricultural chemicals, feed additives and veterinary drugs in food

---

6) *Regionalisation* is an international concept that puts control measures in place to contain the disease agent in the affected area(s) to ensure that safe trade can continue to take place from the non-affected areas or for a number of products, under well-defined safe risk mitigation conditions, from affected areas. The EU legislation foresees strict measures to apply regionalisation which are based on science and fully in line with the OIE international standards. EU position is that trading partners should recognise the EU regionalisation measures put in place in accordance with OIE standards and thus not to impose country-wide bans on affected EU Member States.

In 2006 Japan introduced a positive list system for pesticides, feed additives and veterinary drugs. At the time of the introduction of the positive list, there were 758 chemical substances for which provisional MRLs had been set. In order to establish official MRLs, all substances with provisional MRLs need to be reviewed by the Food Safety Commission (FSC) and a safety assessment has to be carried out as required by the Food Safety Basic law in Japan. This review was supposed to be finished by 2011 but as of December 2017 there were still 362 substances with provisional MRLs that MHLW is reviewing with the view of completing a safety assessment and establishing a permanent MRL list.

With regards to MRLs, it was important to ensure clarity around the specific deadlines for each of the various steps in the approval processes. In December 2017 MHLW released an administrative notification about the standard processing time for chemical MRLs after receiving risk assessment from FSC. Timeline is set to one year from the date when the MHLW is notified by the FSC of the assessment results. The timeline notification has also been released in English.

Furthermore, it was important that Japan commits to accelerated approval of chemicals accepted by international setting bodies. Japan undertook to clarify, in an administrative notification, that when Codex standard is applied to certain chemicals, it does not require residue study data on crops for chemical Maximum Residue Limits if the Theoretical Maximum Daily Intake does not exceed Acceptable Daily Intake.

The two parties agreed to have more transparent and easy procedures in the future to overcome the differences between their systems with regard to MRLs.

#### 4.2 Food Additives

The scope of food additives defined in the Food Sanitation Act (FSA) in Japan is different from that defined by the CODEX Alimentarius Commission or from that of the additives recognized as safe by

international food safety evaluation bodies such as the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), the EC Scientific Committee on Food or the EFSA. Namely, in Japan food additive definition includes processing aids while other definitions do not include such aids.

During EU-Japan EPA negotiations, Japan confirmed approving 45 internationally widely used food additives. Currently, all of the EU concerned additives among the list of 45 substances are approved. Specific commitments of signatory parties on transparency and predictability with respect to the application and approval procedures for food additives are outlined in the annex to the SPS chapter<sup>7)</sup> of the EPA. Japan and the EU have been working together to deepen understanding towards Japan's food additive designation procedure, for example through the Food Additives Seminar held on 4 July, 2016 in Brussels. In 2015 MHLW also set up the Food Additive Designation Consultation Centre (FADCC) in order to assist applicants.

The approval process has been made more transparent following the publication in English of several guidelines and of specific deadlines for completing the various steps:

- The standard processing time for conducting the risk assessment in the FSC is set to one year (i.e. from the time when MHLW requests the FSC to carry out the risk assessment to the time when the MHLW is notified of the assessment results by the FSC)
- The approval process by MHLW is set to one year (i.e. from the time when MHLW receives a notification of the result of the risk assessment to when the target additive is designated).

Nevertheless, Japan's approach to food additives did not yet solve trade issues as substances considered safe elsewhere, including by international standard setting bodies, do not for the moment benefit from an expedited approval in Japan. In particular regarding processing

---

7) Annex 6 of EU-Japan EPA

aids, initial data sets required by Japanese authorities for risk assessment differ from those required by EU authorities. This usually obliges companies to generate and submit standalone data especially for the risk assessment in Japan.

In July 2016 the EU launched a food additive designation project, for which three substances were chosen with the aim of assisting the applicants to draft applications for submission to the MHLW. Through this project and the future approvals of the three substances it will be possible to see in practice where the challenges in the approval process are and whether the Japanese Authorities are able to follow the published timelines. The results of the project are expected to be made available soon.

Furthermore, under the EU-Japan EPA, it was agreed to facilitate the trading of wine products between EU and Japan, through an accelerated approval of 28 substances used in wine<sup>8)</sup>. It is expected that this will bring about additional benefits to both consumers and businesses in the region.

## 5. What comes next in the implementation of EU-Japan EPA SPS rules?

The EU-Japan EPA is a balanced agreement capturing key priority areas for both parties. Agricultural and industrial producers in both EU and Japan will benefit from reduced tariffs and better market access due to elimination of non-tariff measures. At the same time, consumers will benefit from wider selection of products at reduced prices. The pledges made call for stronger cooperation between the EU and Japan in the implementation of SPS measures.

## 6. Conclusion

The SPS measures represent an important dimension of the EU-Japan EPA, in whose application the authorities on both sides have expressed their intention to cooperate. The SPS Chapter in the agreement improves the predictability and transparency of the process and the procedures relevant in this area. It will be up to the two parties to deliver on, and to monitor the implementation of their shared commitments with a view to achieve the mutual expansion of their reciprocal trade.

---

### 略歴

#### Nora MATEI

Second Secretary, Trade Section, Delegation of the European Union to Japan

Nora Matei joined the Trade section of the Delegation of the European Union to Japan in September 2018. She is in charge of a diverse portfolio covering SPS, financial services, public procurement, along with macroeconomic aspects relevant to the EU-Japan cooperation.

Ms Matei previously worked in European Commission's Directorate General for Economic and Financial Affairs on the EU budget financing of infrastructure projects. She most recently was involved in the preparatory discussions for the launch of the EU-Japan investment cooperation framework.

Ms Matei holds a BSc degree in Finance and Banking from Hyperion University, Romania. She also holds a Master Degree in International Business from Hirosaki University, Japan.

---

8) The names of the additives are available in Annex 2-E "FACILITATION OF WINE PRODUCT EXPORT" of EU-Japan EPA.



# 高温嫌気性芽胞菌 *Moorella thermoacetica* 芽胞に対する脂肪酸エステル作用

前・財団法人東洋食品研究所  
主席研究員

青山 好男



## 要 旨

高温で増殖する嫌気性芽胞菌の芽胞は耐熱性が高い。それらはミルクコーヒー缶詰などの加温販売される低酸性飲料の変敗原因菌である。中でも *Moorella thermoacetica* 芽胞は非常に耐熱性が高く、加熱殺菌処理のみでの制御は難しい。脂肪酸エステルが本菌の増殖防止に有効であり、現在では本菌による変敗問題はほとんど発生していない。本菌芽胞に対する脂肪酸エステルの作用機構は不明である。本稿では著者らによる作用機構に関する研究成果を研究経過に沿って解説する。

脂肪酸エステルは休眠芽胞には作用せず、発芽に影響を与えない。発芽後の芽胞に作用し、芽胞内膜の一部に欠損を生じ、コア内容物を漏出させることが透過電子顕微鏡観察から明らかとなった。蛍光標識された脂肪酸エステルを用いた蛍光顕微鏡やフローサイトメーターによる解析から脂肪酸エステルが発芽芽胞の内膜に結合すること、ある一定量結合すると膜を損傷させ死滅させることが分かった。芽胞の加熱処理時に脂肪酸エステルが共存しても死滅は促進されないが、加熱損傷を受けた芽胞は増殖開始が遅れていた。加熱損傷を受けた芽胞はコートやコレックスの変形・損壊が起こっていた。

\*\*\*\*\*

## <Summary>

Spores of thermophilic anaerobic spore-forming bacteria are highly heat resistant. They are causal bacteria in low-acid beverages, warmed and sold, such as canned milk coffee. Among these, *Moorella thermoacetica* spores are extremely highly heat resistant. Therefore it is difficult to control them only by heat treatment. Fatty acid esters are effective in preventing the growth of this bacterium. At present, there is a very low risk of spoilage by this bacterium. The mechanism of action of fatty acid esters on this bacterial spore is unknown. In this report, the results of research by the authors on the mechanism are explained along with the course of research.

Fatty acid esters did not affect dormant spores and did not affect germination of the spores. Transmission electron microscopy observation revealed that they acted on spores after germination, causing defects in a part of the spore inner membrane, resulting in leaked core contents. Analysis by fluorescence microscopy and flow cytometry using fluorescence labeled fatty acid esters revealed that fatty acid esters bound to the inner membrane of germinated spores. Binding in a certain amount of fatty acid esters damaged the membrane and killed the

Action of Fatty Acid Esters on Thermophilic  
Anaerobic Spore-forming Bacteria  
*Moorella thermoacetica* Spores

YOSHIO AOYAMA  
Former Toyo Institute of Food Technology

spores. Death of the spores did not result when fatty acid esters were present at the time of heat treatment. Heat damaged spores displayed delayed onset of growth. The coat and cortex of the spores were deformed and damaged.

## 1. はじめに

芽胞菌は高い耐熱性を有する芽胞を形成するため、芽胞菌が増殖できる食品では 100 ℃ 以上の加熱が必要である。食品衛生法では、ボツリヌス菌芽胞を死滅させる加熱処理を確保するように規定している。実際には、それぞれの食品で増殖できる芽胞菌の芽胞の耐熱性に応じて、さらにきびしい加熱処理が施されている。一般に生育温度が高い菌の芽胞の耐熱性は高い傾向にある。冬季に加温販売される、ミルクコーヒー缶詰などの低酸性飲料では、これらの高温芽胞菌が変敗を引き起こす可能性がある。中でも嫌気性菌である *Moorella thermoacetica* 芽胞は極端に耐熱性が高く、加熱処理のみで本菌の増殖を防止することは困難である。この芽胞を死滅できる加熱処理は、飲料品質に大きなダメージを与える過剰加熱となるためである。この菌の増殖を防止するために、原料砂糖液の紫外線殺菌や乳化剤添加の手段が採られている<sup>1)</sup>。本菌は土壌由来のため、多くの食品製造原料の汚染菌となっている<sup>2)</sup>。現在では本菌による変敗問題はほとんど起こっていないが、これは乳化剤である脂肪酸エステルが *M. thermoacetica* 芽胞に対する強い増殖防止効果によるものである。これまでに脂肪酸エステルの芽胞菌への作用機構に関する、多くの研究がなされてきたが、明確な結論は得られていない。

本稿では、まず芽胞菌について、その構造やライフサイクル、発芽現象などについて概説する。その後、著者らが行った *M. thermoacetica* 芽胞に対する脂肪酸エステルの作用機構に関する研究を、その経過に沿って詳述する。

## 2. 芽胞菌の概要

微生物には、細菌、カビ、酵母などさまざまな種類があるが、細菌の中には栄養の枯渇など生育環境が悪化したとき細胞内に熱、放射線、乾燥、化学物質に抵抗性をもつ耐久型の芽胞を形成する芽胞菌がある。よく知られている芽胞菌として *Bacillus* 属や *Clostridium* 属があり、

納豆菌は前者、ボツリヌス菌は後者の例として挙げられる。芽胞菌には明確に区別される 2 つのライフステージがある。生存に良好な環境下では、活発に栄養増殖し分裂を繰り返し、細菌数が爆発的に増加する（これは通常の細菌と同じである）。この時の細胞は「栄養細胞」と呼ばれる。しかし増殖に不利な環境になると、芽胞形成のスイッチが入り、細胞の中に「芽胞」とよばれる耐久型細胞を形成する。これは成熟して細胞外に出て成熟芽胞となる。

成熟芽胞は低水分で代謝活動をしない休眠状態にある。この状態では種々のストレスに強い耐性を示す。細菌を含めて一般の微生物は 80 ℃ 程度の加熱で死滅するのに対して芽胞を死滅させるためには、100 ℃ 以上の加熱が必要である。芽胞の最内部にはコアがあり、DNA が存在し、発芽後に栄養細胞になる。ジピコリン酸という芽胞に特有の物質を多く含み、これは Ca イオンとキレート結合している。低分子酸可溶性タンパク質と呼ばれる、DNA を保護する物質も存在している。コアの高度な脱水状態が芽胞に耐熱性と休眠性を与えている。芽胞は複雑な多層構造から成っている。内側からコア、芽胞内膜、ジャーム・セル・ウォール、コルテックス、芽胞外膜、コート、エキソスポリウムである。これらの構造によって外部からの各種物質の侵入を防いでいる。コルテックスはペプチドグリカンであり、細胞壁と類似している。芽胞形成時にコルテックスが徐々に厚くなり、それに伴ってコアの脱水が進むといわれている。

芽胞は休眠状態で長期間生存できるが、環境が良くなると発芽し、発芽後生育を経て再び分裂・増殖する栄養細胞になる。発芽は、芽胞内膜の受容体に外部からの発芽誘起剤が結合して始まり、芽胞内に存在するコルテックス溶解酵素の活性化、同酵素によるコルテックスの分解、外部からの水の侵入というプロセスをたどる。発芽の分子機構の研究は、従来 *Bacillus subtilis* をはじめ *Bacillus* 属の菌を中心に進められていたが、近年 *Clostridium* 属細菌の研究も盛んに行われている。その結果、発芽の大筋は両属に共通であるが、発芽誘起剤やコルテックス分解酵素などの細かい点で明確な違いが存在

することが判明してきている。芽胞菌のライフサイクル、構造、発芽の概要を述べたが、詳細はそれぞれ文献を参照されたい<sup>3-8)</sup>。また *M. thermoacetica* 以外にも多くの食品変敗原因菌が知られている。これらに関しては、実用的な見地から多数の有用な解説がなされている<sup>9-13)</sup>。

### 3. *M. thermoacetica* について

#### (1) *M. thermoacetica* による変敗問題

缶コーヒー飲料は、1970 年代に本格的に販売され始め、70 年代中期には缶飲料の自動販売機が普及し始めた。ホット&コールドタイプも出現し、缶飲料は冬季には加温販売されるようになった。加温販売が始まった当初、ミルクコーヒー缶詰で変敗問題が発生した。その変敗は、ガス発生が無く、蓋が膨らまないタイプで、フラットサワーと呼ばれるものである。外観からは分らず、開缶すると飲料中の乳タンパク質が凝集していた。幸いにも変敗した飲料に毒性が無く、万一飲用したとしても、食中毒を起こすことはなかった。しかし、商品価値は失われてしまうため、業界では大きな問題となった。調査の結果、新しいタイプのフラットサワー菌に起因することが明らかとなった<sup>14, 15)</sup>。自動販売機で高温に長期間置かれたため、高温で生育する嫌気性芽胞菌が増殖し酸が生成したことが明らかとなった。当時、本菌は *Clostridium thermaceticum* と同定された<sup>16)</sup>。しかし、1990 年代から 16 SrDNA による遺伝子系統解析により、従来の属や種が新たな属や種に再編されており、現在では本菌は *Moorella thermoacetica* と命名されている。

#### (2) *M. thermoacetica* の性状

典型的な高温菌であり、増殖最適温度は 55~60 °C で、35 °C 以下では増殖しない。そのため常温流通で問題になることはない。加温販売されない一般缶詰食品では、この菌を死滅させたり、増殖を防止するような手段は採られていない。ただし加温販売されない製品であっても製造後に高温で長時間放置されたり、流通や保管時に高温で長時間放置されるような場合、本菌が増殖する可能性があるため注意が必要である。概ね pH5 以下では増殖しないため、酸性の飲食品で本菌が増殖することはない。偏性嫌気性菌で、増殖には高い嫌気条件を必要とするため、缶詰飲食品で問題になることが多い。また

増殖には豊富な栄養分を必要とし、糖や乳成分を含まない飲料で増殖することはない。これまでの変敗事例として、ミルクコーヒー、ミルクティー、ココア、ドリンクスープ、しるこドリンクが挙げられる。変敗のタイプはいわゆるフラットサワーで、産生する酸は主として酢酸である。ガスは発生しないか、発生しても 2 次的なものでわずかである<sup>1)</sup>。

#### (3) *M. thermoacetica* 増殖防止の方法

缶詰のような長期保存食品における微生物制御の基本は加熱殺菌である。約 200 年前に缶詰製造原理が発明されて以来、パスツールによる食品腐敗が微生物に起因することの発見、ボールによる加熱殺菌理論の確立により、現在では加熱殺菌技術があらゆる容器詰食品製造の基本となっている。加熱殺菌の条件は微生物の耐熱性に基いて決定されるが、*M. thermoacetica* の耐熱性はきわめて高い。菌株や芽胞形成の培養条件により異なるが、耐熱性の高い菌株が見出されており、非常にきびしい加熱殺菌処理が必要とされる<sup>13)</sup>。このような加熱殺菌は飲食品の品質を損ない、製造工程上でも困難である。

加熱殺菌以外の制御方法が検討された結果、汚染源である砂糖液の紫外線殺菌や乳化剤添加の 2 つの方法が有効であった。乳分を含有する低酸性飲料の場合には脂肪酸エステルが乳化剤として用いられており、この物質が *M. thermoacetica* の増殖防止に有効であることは好都合であった。脂肪酸エステルは、培地では 10 ppm 程度で生育を抑制する。ミルクコーヒーやポタージュスープ、しるこドリンクでは乳成分やデンプンの影響を受けるため、数百から数千 ppm 添加されている。汚染源はグラニュー糖や増粘多糖類、乳原料などといわれている。

脂肪酸エステルは、多くの高温芽胞菌の増殖抑制にきわめて有効であり、加温販売での微生物による変敗問題は、現在ではほとんどなくなっている。これは高温嫌気性芽胞菌の対策として脂肪酸エステルなどの添加が製造現場で徹底されているためといわれている。種々の芽胞菌に対する脂肪酸エステルの作用に関して多くの研究がなされてきた<sup>17-26)</sup>。対象菌は *Bacillus* 属が多く、*M. thermoacetica* を対象とする研究はほとんどなされなかった。これは *M. thermoacetica* は芽胞形成率が低く、精製芽胞の調製が難しいためと考えられる。なお高温芽胞菌の一部には脂肪酸エステルの増殖抑制効果が比較的小さいものがあり、その増殖防止にはかなり高濃度の添加が



必要とされる場合があるため、注意が必要である<sup>13, 27)</sup>。

#### 4. *M. thermoacetica* 芽胞に対する脂肪酸エステルの作用

##### (1) 芽胞の調製

芽胞の実験には、栄養細胞の混入していない純粋な芽胞液が相当量必要である。菌種によっては、芽胞形成率が低い場合がある。この研究で用いた菌株は変敗ミルクコーヒー缶詰から分離された 24-1 株で、東洋食品研究所の保存菌株である<sup>1)</sup>。本菌も芽胞形成率はかなり低い。培養は変法チオグリコレート培地 (mTGC) の寒天固形培地を用い、嫌気条件 55 °C で 10~14 日間培養した。形成されたコロニーを掻き取り、菌懸濁液を調製し、得られた栄養細胞と芽胞の混合した懸濁液を図 1a) に示す。懸濁液を加熱処理、リゾチーム処理、SDS 処理して純度 95 % 以上の精製芽胞を得た (図 1e))<sup>28)</sup>。精製芽胞は直径 1  $\mu$ m 前後の球形であり、栄養細胞は桿菌であるため、芽胞と栄養細胞の区別は容易である。

##### (2) 発芽挙動

芽胞には発芽、発芽後生育、最初の分裂そして栄養増殖という数段階のライフプロセスがある。芽胞に対する脂肪酸エステルの作用機構を検討するには、どのプロセスで作用するかを明らかにする必要がある。これまでの脂肪酸エステル作用に関する研究においても発芽に影響

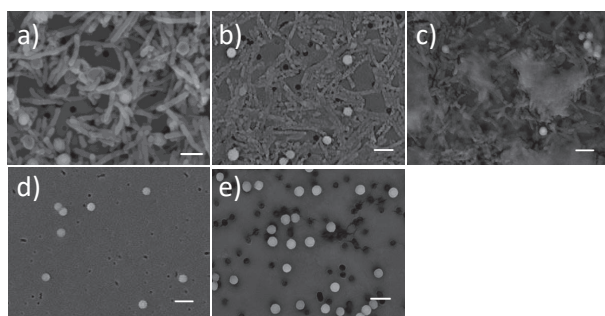


図 1 精製各段階の *M. thermoacetica* 芽胞 (走査電子顕微鏡)

a) 芽胞 - 栄養細胞懸濁液, b) 加熱処理, c) リゾチーム処理, d) SDS 処理, e) 精製芽胞 バー: 2 $\mu$ m

Figure 1 *M. thermoacetica* spores at each stage of purification (SEM)

a) spore-vegetative cell suspension, b) heat treatment, c) lysozyme treatment, d) SDS treatment, e) purified spores, bar: 2 $\mu$ m

するかどうかが焦点の 1 つであった。

本菌の発芽誘起剤が不明<sup>29)</sup>のため、発芽実験には mTGC (液体培地) を用いた。100 °C、5 分の加熱活性化処理した芽胞液を、55 °C で恒温に保管された mTGC (液体培地) に接種し発芽を開始、発芽進行は濁度の低下や耐熱性の消失でモニターした<sup>30)</sup>。また発芽経過を位相差顕微鏡で観察した。これら 3 つの方法による発芽進行を図 2 に示す。濁度は 120 分で 70 % 低下した。耐熱性芽胞数も 120 分で 91 % 低下した。位相差顕微鏡は芽胞の研究によく用いられ、休眠芽胞は明るく白く光った状態で見えるが、発芽すると、暗色化して黒くなる。0 分では大部分の芽胞が休眠状態で、時間が経過するにつれて暗色芽胞数が増加し、発芽していることが分かる。発芽は約 120 分でほぼ完了した。

発芽の追跡において注意しなければならないことがある。培地中で発芽誘起剤に接触した後、短時間 (約 10 分) で発芽開始する芽胞もあれば、発芽開始に長時間 (約 90 分) かかる芽胞もある。個々の芽胞が発芽に要する時間はきわめて短い。いったん発芽が始まると、その芽胞は数分のうちに発芽を完了する。20 分から 40 分くらいの時間に発芽する芽胞が芽胞集団全体の中で多くを占めているために、20 分から 40 分の濁度の低下が大きい

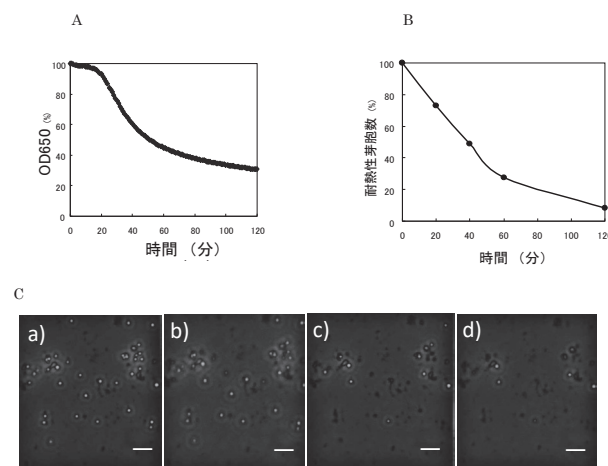


図 2 *M. thermoacetica* 芽胞の発芽

A: 濁度低下, B: 耐熱性消失,

C: 位相差顕微鏡による発芽進行芽胞の観察 バー: 10 $\mu$ m

a) 0 分, b) 20 分, c) 60 分, d) 120 分

Figure 2 Germination of *M. thermoacetica* spores

A: drop in turbidity of spore suspension,

B: disappearance of heat-resistance,

C: lapse analysis of spore germination by phase contrast microscope,

a) 0min., b) 20min., c) 60min., d) 120min., bar: 10 $\mu$ m

わけである。濁度低下の方法で発芽を追跡している場合、芽胞液は発芽開始時間にバラツキのある、さまざまな芽胞からなる集団全体を一つにして、濁度変化という指標でみていることになる。

発芽に対する温度の影響を調べた結果を図3に示す。45℃ではほとんど発芽せず、60℃、65℃が最も発芽速度が大きい。しかし最終的な濁度低下は55℃が最も大きかった。これは芽胞集団全体の中での発芽できる芽胞の割合に関連している。芽胞集団の中のすべての芽胞が発芽するわけではない。遺伝的なもの、芽胞形成時の条件や発芽の環境因子によって、集団の中の発芽できる芽胞の割合は異なる。60～65℃の比較的高い温度では芽胞集団全体の中で発芽できない芽胞の割合が55℃の場合より多いのであろう。前述したように、発芽開始までの時間に長短があるなど、芽胞集団は性状の異なるさまざまな芽胞から構成されている。最近では芽胞集団全体でみるだけでなく、個々の芽胞の挙動を調べる研究が行われている<sup>31)</sup>。個々の芽胞を研究することにより、たとえば発芽開始の「早い、遅い」については芽胞に存在する発芽誘起剤受容体の遺伝子発現が個々の芽胞で異なることに起因すると推定されている<sup>32)</sup>。今後は芽胞集団全体で捉えるだけでなく、個々の芽胞に焦点をあてた研究が重要になってくると予想される。

### (3) 芽胞の発育に対する脂肪酸エステルの影響

脂肪酸エステル0～100 ppm存在下での芽胞の発育を追跡した(図4)。ここで用いた脂肪酸エステルはショ糖パルミチン酸モノエステルである。最初の2時間の濁

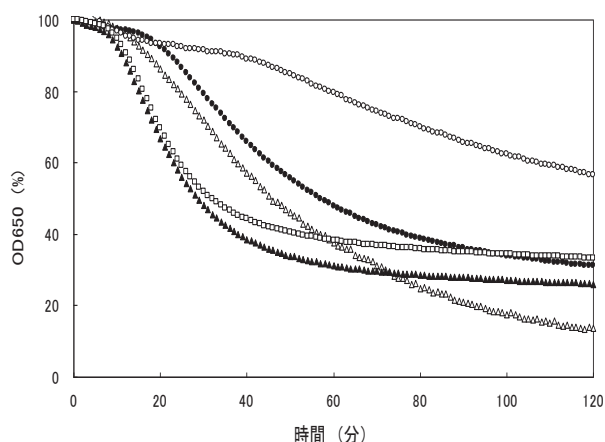


図3 *M. thermoacetica* 芽胞の発芽に対する温度の影響  
○: 45℃, ●: 50℃, △: 55℃, ▲: 60℃, □: 65℃  
Figure 3 Influence of temperature on germination of *M. thermoacetica* spores

度低下は発芽であるが、これは0～100 ppm まですべて同じである。24時間までは同じ濁度変化であるが、24時間以降は違いがみられる。0 ppm、1 ppmでは24時間以降に濁度が増加するが、これは休眠状態の芽胞が発芽し、発芽後生育、栄養細胞となって増殖していることを示している。一方、脂肪酸エステル10 ppm、100 ppmでは、最初濁度が低下し、発芽は起こっている。しかし0 ppm、1 ppmと異なり24時間からの濁度増加はなく、48時間、72時間でも、濁度は低いままである。栄養細胞となる分裂・増殖が起こっていないようである。

脂肪酸エステル10 ppmで、芽胞にどのようなことが起こっているのかを透過電子顕微鏡で調べた。図5a)は、休眠状態の芽胞であるが、中心部がコアで、その周りに厚いコルテックスやコートの層が見られる。脂肪酸エステル0 ppmの場合には、6時間(図5b))ではコアは膨潤し、コルテックスやコートは消失し、発芽が完了している。24時間(図5d))では分裂が始まっており、分裂中の栄養細胞が観察される。一方、脂肪酸エステル10 ppmでは6時間(図5e))でコルテックスやコアはほぼ消失し、コアが膨潤している点は0 ppmと同じであり、発芽が起こっていることを示している。ただし0 ppmと異なり芽胞の膜の一部に欠損を生じている。12時間(図5f))では、内部が淡くなっている。24時間(図5g))では膜の欠損部分が大きくなり、コア内容物の大部分が漏出しているように見える。この透過電子顕微鏡

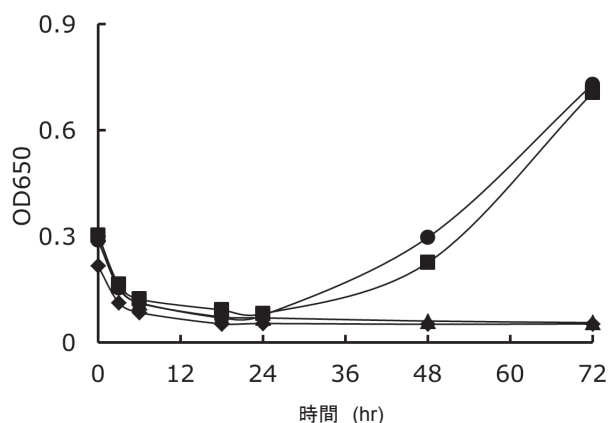


図4 *M. thermoacetica* 芽胞生育に及ぼすショ糖パルミチン酸エステルの影響  
生育条件 mTGC 培地, 嫌気, 55℃  
●: 0ppm, ■: 1ppm, ▲: 10ppm, ◆: 100ppm  
Figure 4 Influence of fatty acid esters on the growth of *M. thermoacetica* spores growth condition: mTGC medium, anaerobic, 55℃

画像から脂肪酸エステル 10 ppm 存在下では発芽はするものの、発芽後に芽胞は膜の一部に欠損を生じ、コア内容物が漏出し死滅する。これは濁度変化からの推測と合致している。

上述したように、脂肪酸エステル 1 ppm では 0 ppm と同じく栄養増殖するが、10 ppm では増殖できないという結果であった。そこで 1~10 ppm という低濃度ではどのような影響を与えるのか調べた。図 6 は種々濃度の脂肪酸エステル含有 mTGC 培地での増殖曲線である。発芽ではなく増殖の過程に焦点をあてるために、図 4 での実験と異なり接種芽胞数を少なくした。初発濁度は 0.02 である。1 ppm までは 0 ppm と同様の増殖を示しているが、1.5 ppm で増殖開始が遅れ、2 ppm ではさらに大きく遅れている。5 ppm では 7 日間まで増殖していない。このように脂肪酸エステル 1.5~2 ppm では増殖の開始が遅れる。いずれの濃度でも増殖曲線の傾きはほぼ同じであり、増殖速度自体は影響を受けていない。

著者らは *M. thermoacetica* の栄養細胞が脂肪酸エステル 10 ppm の存在下、細胞膜に損傷を受け、カリウムイオンや ATP、タンパク質などの菌体内成分を漏洩すること、生菌数は大幅に低下することを報告している<sup>25)</sup>。栄養細胞も芽胞と同様に脂肪酸エステルの作用を受けることは明らかである。しかし、芽胞は発芽後、栄養増殖に入る前に脂肪酸エステルの作用を受け死滅するので、脂肪酸エステル存在下では芽胞は栄養細胞にまで増殖す

ることはない。したがって芽胞が栄養細胞になった後に脂肪酸エステルの作用を受けるという考えは妥当ではない。

#### (4) 脂肪酸エステルの化学構造と抗菌力

脂肪酸エステルは乳化剤であり、親水基と疎水基の 2 つの部分から成っており、構成する親水基や疎水基の種類とエステル化度によってさまざまなタイプがある<sup>33)</sup>。そこで *M. thermoacetica* 芽胞の増殖防止に必要な脂肪酸エステルの化学構造について調べた。なおエステルとしてモノ -、ジ -、トリ - の 3 種があるが、抗菌性はモノエステルタイプによることが知られている。まずパルミチン酸のモノエステルについて親水基を変えた場合に抗菌性がどのような影響を受けるかを最小発育阻止濃度 (MIC) で調べた。その結果、親水基がショ糖、グリセリン、アスコルビン酸、トレハロースのいずれのエステルであっても、MIC はほぼ同等であった。なお、この研究ではショ糖脂肪酸エステルとトレハロース脂肪酸エステルのどちらかを用いて実験を行った。

トレハロース脂肪酸モノエステルを用いて構成脂肪酸の鎖長 (炭素数) の抗菌性への影響を調べた。炭素数 8 のカプリル酸から炭素数 16 のパルミチン酸までの 5 種類の脂肪酸エステルの MIC を測定した (図 7)。脂肪酸鎖が長くなるほど MIC が小さく、すなわち抗菌力が強くなり、パルミチン酸が最も抗菌力が強かった。MIC (対

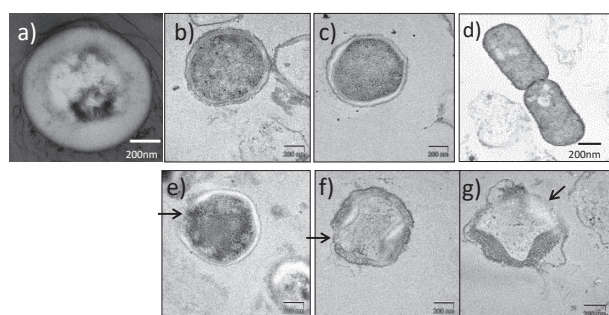


図 5 *M. thermoacetica* 芽胞の発育に及ぼすショ糖パルミチン酸エステルの影響 (透過電子顕微鏡), バー: 200nm, 矢印 (→): 膜の欠損部

a) 休眠芽胞, ショ糖パルミチン酸エステル 0ppm b) 6 時間, c) 12 時間, d) 24 時間, ショ糖パルミチン酸エステル 10ppm, e) 6 時間, f) 12 時間, g) 24 時間

Figure 5 Influence of fatty acid esters on the growth of *M. thermoacetica* spores (TEM) bar: 200nm arrow(→): defect of membrane

a) dormant spore, b) c) d) sucrose ester of fatty acid 0ppm b) 6hr., c) 12hr., d) 24hr., e) f) g) sucrose ester of fatty acid 10ppm, e) 6hr., f) 12hr., g) 24hr.

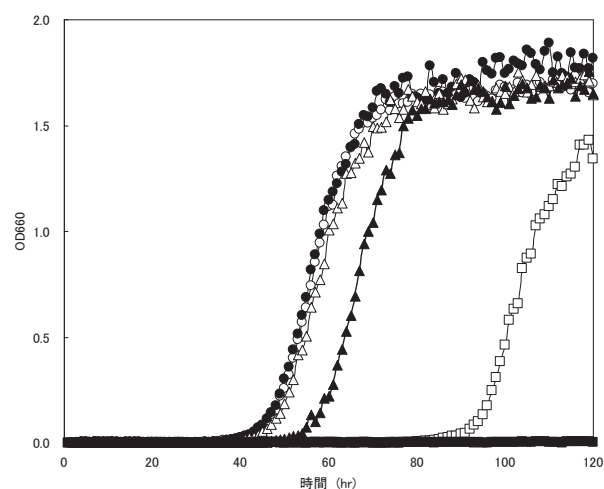


図 6 *M. thermoacetica* 芽胞の増殖に及ぼすショ糖パルミチン酸エステルの影響

○: 0ppm, ●: 0.5ppm, △: 1ppm, ▲: 1.5ppm, □: 2ppm, ■: 5ppm

Figure 6 Influence of fatty acid esters on the growth of *M. thermoacetica* spores



数) と脂肪酸炭素数とは良好な直線性を示した。

### (5) 脂肪酸エステルの芽胞への結合

脂肪酸エステルが芽胞の膜欠損を生じることは明らかとなったが、芽胞内膜に実際に結合しているか、脂肪酸エステル結合量がどの程度になれば芽胞が増殖できなくなるかを調べた。この実験のために、蛍光標識された脂肪酸エステルを用いた。トレハロースの OH 基に蛍光試薬の 6,7-dimethoxy-1-methyl-2 (1H) quinoxaline (DMEQ) を共有結合した蛍光標識トレハロースパルミチン酸モノエステルを新規に合成した。蛍光標識した脂肪酸エステルと未標識脂肪酸エステルの MIC を評価し、これら両者には *M. thermoacetica* 芽胞の生育阻害効果に差がないことが確認されている。

蛍光標識トレハロースパルミチン酸モノエステルを用いて芽胞への結合を蛍光顕微鏡で調べた。蛍光脂肪酸エステル 10 ppm を含有する mTGC 培地に 55 °C で 5 時間インキュベートした休眠芽胞 (図 8a)、b)) および 6 時間インキュベートした休眠芽胞 (図 8c)、d)) を比較した。図 8 の a)、b) および c)、d) はそれぞれ同時に位相差顕微鏡、蛍光顕微鏡で観察されたものである。休眠状態のままで発芽していない芽胞は蛍光染色されていないのに対して、培地で 6 時間インキュベートされた c)、d) では、位相差顕微鏡から芽胞は黒色化し、発芽している。この発芽した芽胞は蛍光染色されていた。この観察結果から、休眠状態の芽胞には脂肪酸エステルは結合せず、発芽後の芽胞には結合することが分かる。

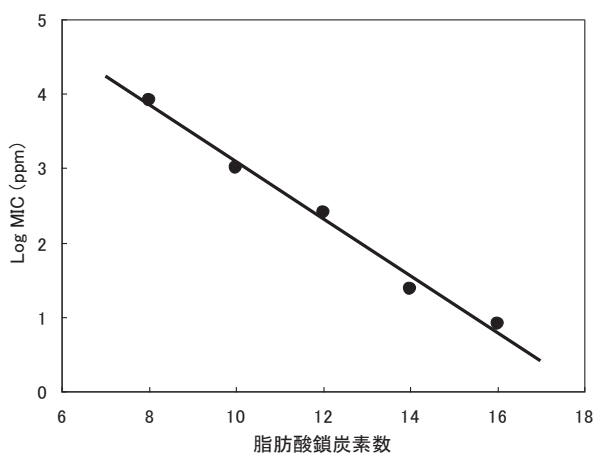


図7 脂肪酸エステルの脂肪酸鎖炭素数が *M. thermoacetica* 芽胞に対する MIC に与える影響

Figure 7 Influence of Carbon number of fatty acid chains of fatty acid esters on MIC for *M. thermoacetica* spores

また芽胞に結合した蛍光脂肪酸エステルと非結合の蛍光脂肪酸エステルの蛍光スペクトルを比較したところ、芽胞に結合した脂肪酸エステルの蛍光極大波長が短波長側に移動していた。これは蛍光脂肪酸エステルがより疎水性の強い環境に存在することを示唆するものである。脂肪酸エステルが膜近傍に存在すること、すなわち脂肪酸エステルが膜に結合していることが推測される。

次に脂肪酸エステルがどの程度、結合すれば死滅するのか、発芽芽胞を死滅させるために必要な結合量を検討した。芽胞への脂肪酸エステル結合量をフローサイトメーターを用いて調べた。蛍光トレハロースパルミチン酸エステルを含む培地で 6 時間インキュベートした後、フローサイトメーターで流れてくる芽胞の 1 つずつの蛍光を測定した。測定で得られた蛍光強度 (相対値) は、それぞれの芽胞に結合した蛍光脂肪酸エステル量に比例する。データとして蛍光ヒストグラムが得られる。横軸に蛍光強度、縦軸にさまざまな蛍光強度をもつ芽胞の数を表したものである (図 9A)。図 9A には、データの代表的な数点を示した。培地の脂肪酸エステル濃度が 0、0.5、2、10 ppm の場合である。脂肪酸エステルを含有

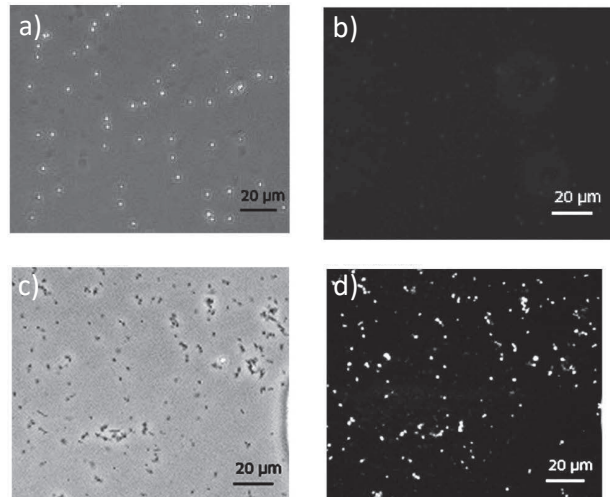


図8 *M. thermoacetica* 芽胞への蛍光脂肪酸エステル結合の顕微鏡観察休眠芽胞に蛍光脂肪酸エステル 10ppm を 55 °C で 5 時間作用

a) 位相差顕微鏡, b) 蛍光顕微鏡, 休眠芽胞を蛍光脂肪酸エステル 10ppm 含有培地で 55 °C で 6 時間培養  
c) 位相差顕微鏡, d) 蛍光顕微鏡

Figure 8 Microscopic evaluation binding of fluorescent fatty acid esters to *M. thermoacetica* spores

a) b) dormant spores were incubated with 10ppm of ester of fatty acid for 5 min. at 55 °C a) phase contrast microscope, b) fluorescent microscope,  
c) d) dormant spores were incubated with 10ppm of ester of fatty acid for 6 hr. at 55 °C c) phase contrast microscope, d) fluorescent microscope

しない、0 ppm の培地でインキュベートされた芽胞のヒストグラム (図 9A a)) に蛍光をもつことが示されているが、これは芽胞内のタンパク質などの蛍光をもつ生体物質によるものである (自家蛍光)。培地濃度 0.5 ppm でインキュベートされた芽胞 (図 9A b)) は 0 ppm に比べて蛍光強度のより高いものが多いことが分かる。培

地濃度 10 ppm でインキュベートされた芽胞 (図 9A d)) は 0.5 ppm に比べて蛍光強度のより高いものがさらに多い。

図 9A のヒストグラムの蛍光強度のピーク値を縦軸に、培地の脂肪酸エステル濃度を横軸にプロットしたグラフが図 9B である。培地の脂肪酸エステル濃度に比例して蛍光強度が増大、すなわち脂肪酸エステル結合量が増加することが分かる。図 9 のヒストグラムで発芽芽胞が全く影響を受けない培地脂肪酸エステル濃度 0.5 ppm は、ほとんどすべての芽胞が蛍光強度 100 以下の範囲に入っている (図 9A b) の矢印)。一方、ほぼすべての芽胞が死滅する脂肪酸濃度 10 ppm の培地でインキュベートされた芽胞のほとんどが蛍光強度 50 以上である (図 9A d) の矢印)。したがって 50~100 の蛍光強度を与える蛍光脂肪酸エステル量以上が結合したとき、芽胞は死滅すると推測される。すなわち蛍光強度 50~100 を与える結合脂肪酸エステル量が死滅の閾値と考えられる。

フローサイトメーターはセルソーター (細胞分取装置) としても用いることができる。すなわち蛍光強度の異なる芽胞を分別して採取することができる。この実験においても蛍光強度別に芽胞を採取し、蛍光強度別の各芽胞の生死を確認しようと分取芽胞を培養した。しかし、すべての芽胞が死滅しており、この試みは失敗に終わった。蛍光強度の弱い芽胞は生存していて、蛍光強度の強い (脂肪酸エステル結合量の多い) 芽胞が死滅していれば、より明瞭な死滅の閾値が得られたかもしれない。すべての芽胞が死滅した理由は、フローサイトメーターでは蛍光を調べるために強い励起光を照射し、蛍光強度の如何にかかわらず、すべての芽胞が死滅したことにあつた。これは標識に用いた蛍光分子を励起するためには、260 nm 付近の殺菌強度の高い波長を含む紫外線を使用せざるを得なかったためである。殺菌強度の低い励起波長を用いる蛍光色素で標識された脂肪酸エステルを用いれば、芽胞の結合脂肪酸エステル量 (蛍光強度) と芽胞生死の関係を直接捉えられる可能性がある。

#### (6) 脂肪酸エステルの作用機構

実験結果から脂肪酸エステルの作用機構を次のように考察した。脂肪酸エステルは休眠芽胞に作用せず、発芽芽胞に作用する。最近の研究では、休眠芽胞と発芽芽胞では内膜の物理的状態が異なることが報告されている<sup>34, 35)</sup>。休

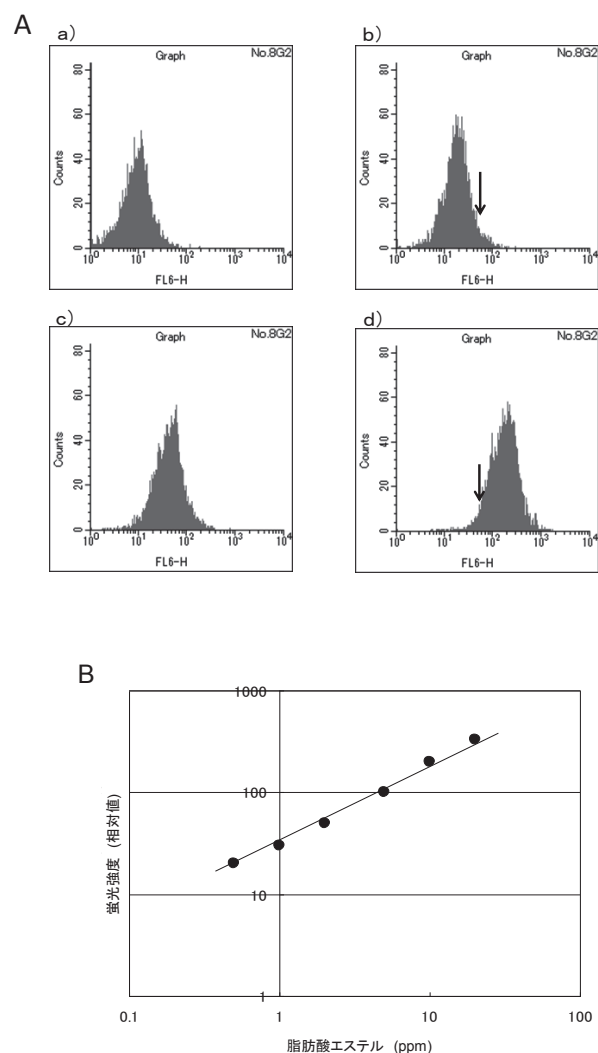


図 9 *M. thermoacetica* 芽胞への脂肪酸エステル結合 (フローサイトメーター)

A 蛍光脂肪酸エステル含有培地でインキュベートした芽胞の蛍光ヒストグラム

a) 蛍光脂肪酸エステル 0ppm, b) 0.5ppm, c) 2ppm, d) 10ppm

B 蛍光ヒストグラムのピーク値 (蛍光強度) への : 培地蛍光脂肪酸エステル濃度の影響

Figure 9 Binding of fluorescent fatty acid esters to *M. thermoacetica* spores (flowcytometer)

A: fluorescent histogram of spores incubated with medium contained fluorescent ester of fatty acid a) fluorescent ester of fatty acid 0ppm, b) 0.5ppm, c) 2ppm, d) 10ppm

B: influence of fluorescent ester of fatty acid in medium on peak value intensity of fluorescent histogram

眠芽胞では芽胞内膜は凝縮状態にある。休眠芽胞は、コートやコルテックスという多層構造で保護され、さらに芽胞内膜が凝縮状態にあるため、芽胞内膜に脂肪酸エステルが接近することは難しいと推測される。発芽し水が入り、コアが膨潤すると、膜の表面積は増大し、「ゆるんだ」状態になる。一般に栄養細胞の細胞膜は凝縮状態でなく「ゆるんだ」状態にある。外部環境との間で栄養物質を含め、さまざまな物質の出入りを可能にするためには「ゆるんだ」状態でなければならないからであろう。休眠芽胞が発芽し、発芽すると栄養細胞の細胞膜に近い状態になる。したがって発芽後には芽胞は栄養細胞と同様、脂肪酸エステルが結合できる状態にあると推測する。透過電子顕微鏡では脂肪酸エステル 0 ppm でも 10 ppm でも発芽は起こっているが、10 ppm では栄養細胞は見られない。脂肪酸エステルが作用する段階は、発芽以降で栄養細胞が形成（分裂増殖）される前であると推測される。芽胞内膜が損傷を受けていて、代謝活動に必要なエネルギー供給はできないから、発芽直後でプロセスは停止しているだろう。蛍光顕微鏡の画像から脂肪酸エステルは膜に結合していると思われる。芽胞膜のリン脂質二重層に脂肪酸エステルの脂肪酸部分が入り込む。比較的少量の脂肪酸エステル結合では、芽胞の増殖は可能であるが、増殖開始が遅れている。これは脂肪酸エステル結合の影響で発芽後生育に長時間かかるためと考えられる。結合量がある一定以上になると芽胞内膜に欠損を生じ、コア内容物も漏出し、増殖できなくなる。Omaridien らはカチオン性両親媒性抗菌ペプチドの芽胞菌への作用機構について興味深い報告を行っている<sup>36, 37)</sup>。この抗菌ペプチドが発芽後の芽胞の内膜に結合し、内膜の攪乱を起こすというもので、著者らの推測している脂肪酸エステルの作用機構と類似している。

## 5. 加熱処理された *M. thermoacetica* 芽胞への脂肪酸エステルの作用

ミルクコーヒーなどの加温販売される低酸性飲料では、製造時のきびしい加熱処理と抗菌力のある脂肪酸エステルの両者によって *M. thermoacetica* 芽胞の増殖が抑えられている。飲料中に存在する芽胞は脂肪酸エステル存在下で加熱処理を受ける。また加熱処理を受けた芽胞が流通・保管中に、脂肪酸エステルが存在する環境にお

かれることになる。これまで述べてきた実験のすべては、せいぜい 100 °C 程度の軽度の加熱を経たもので、いわば未損傷の芽胞である。加熱処理を受けた芽胞に対する脂肪酸エステルの影響、加熱と脂肪酸エステル作用の間に相乗作用があるかを調べる必要があると考えられる。

加熱時に脂肪酸エステルが存在した場合、*M. thermoacetica* 芽胞の加熱死滅が促進されるかどうかを調べた。この実験ではショ糖パルミチン酸モノエステルを用いた。緩衝液と培地のそれぞれに脂肪酸エステル 0 ppm と 10 ppm の、4 種類の加熱媒体での 125 °C の加熱生残曲線を図 10 に示す。報告されている他の菌株<sup>38, 39)</sup>と比較しても、この実験で用いられた菌株 24-1 株がかなり耐熱性の高いものであることが分かる。図 10 の加熱生残曲線は脂肪酸エステルが存在しても、大きな差はないことを示している。脂肪酸エステルの存在で芽胞の加熱死滅が促進されることはない。

加熱損傷芽胞に対して脂肪酸エステルがどのような影響を与えるかを調べた。この実験では生残芽胞数は約 10 % の加熱処理 125 °C、5 分を用いた。脂肪酸エステル含有培地での増殖曲線を未損傷芽胞と加熱損傷芽胞と比較した。未加熱の場合、1.5 ppm から増殖開始に遅れがみられることを前述した。加熱損傷芽胞は、未加熱芽

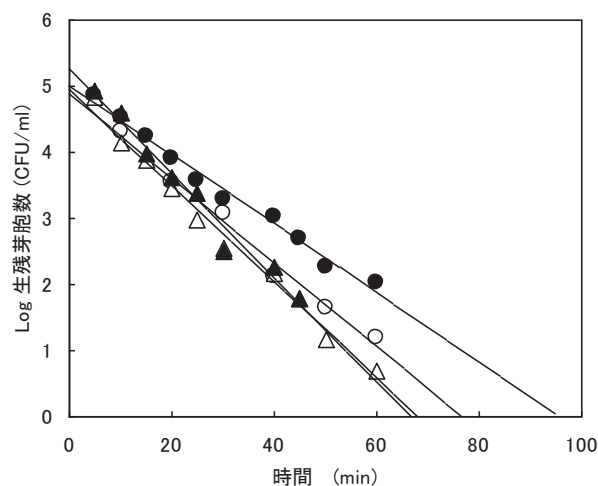


図 10 脂肪酸エステルの *M. thermoacetica* 芽胞の耐熱性への影響（加熱生残曲線）

○：リン酸緩衝液 (pH7), ●：10ppm 脂肪酸エステル含有リン酸緩衝液 (pH7), △：mTGC 培地, ▲：10ppm 脂肪酸エステル含有 mTGC 培地

Figure 10 Influences of fatty acid esters on heat resistance of *M. thermoacetica* spores (heating survival curves)

○：phosphate buffer, ●：phosphate buffer contained fatty acid ester 10ppm, △：mTGC medium, ▲：mTGC contained sucrose ester of fatty acid 10ppm



胞に比べて増殖開始遅れの程度が大きくなった。1 ppm で明らかに遅れがみられ、1.5 ppm ではかなり大きな遅れがあった。2 ppm では、さらに大きく遅れた（データ示さず）。加熱損傷によって、増殖開始遅れの程度が大きくなり、脂肪酸エステル作用に対する感受性が増大した。

加熱損傷された芽胞の透過電子顕微鏡画像を図 11 に示す。加熱による形態変化は、コアの黒色化やコルテックス層の膨潤・変形やコート層の脱離である。コアの黒色化は水の侵入のためである。生残芽胞数 10 % の、芽胞の大部分が死滅する加熱処理であるので、損壊程度の大きなものは死滅していると推測される。コルテックスやコートの損壊が軽度の芽胞も見られる。外部からの化学物質に対する防御の役割を担っている多層構造であり、少しの変形や損壊であっても、脂肪酸エステルの作用を受けやすくなると推測される。

加熱処理時に脂肪酸エステルが存在しても加熱死滅が促進されないこと、加熱処理による芽胞の多層構造の変形・損壊による脂肪酸エステル感受性の増大はあるものの、その程度は限られている。加熱損傷と脂肪酸エステルの相乗効果は小さいと考えられる。

## 6. 脂肪酸エステルの抗菌性に対する食品成分の影響

脂肪酸エステルは培地中では 10 ppm で芽胞の増殖を抑制するが、ミルクコーヒーでは 100～800 ppm、ドリンクスープでは 1,000～2,000 ppm 程度含有していないと増殖を防止できない。これは、飲料中に含まれる種々

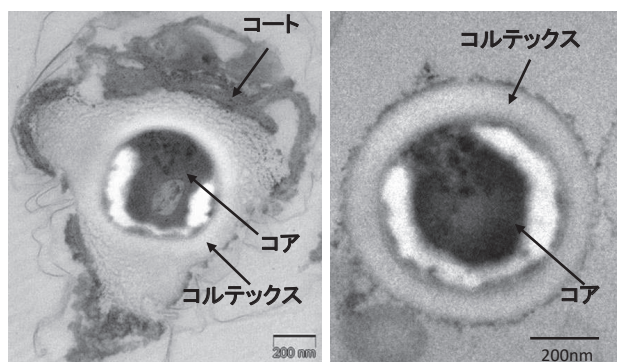


図 11 加熱処理を受けた *M. thermoacetica* 芽胞（透過電子顕微鏡）

Figure 11 Damaged *M. thermoacetica* spore by heat treatment (TEM)

の成分が脂肪酸エステルと強く相互作用し、抗菌作用を妨害するためである。特にタンパク質や脂肪、デンプンが強く妨害する<sup>40, 41)</sup>。ミルクコーヒーには乳含有率がさまざまなタイプがあるが、乳含有率の高いもののほどタンパク質や脂肪の含有量が多くなり妨害作用が強くなって、より多くの脂肪酸エステルが必要となる。デンプンは脂肪酸エステルと強く相互作用するため、ポタージュスープやしるこなどの多量のデンプンを含む飲料では、デンプンが脂肪酸エステルの静菌効果を大きく妨害する。朝賀らはデンプン中のアミロースの抗菌性への妨害作用を詳しく解析している<sup>42, 43)</sup>。

## 7. まとめ

*M. thermoacetica* 芽胞に対する脂肪酸エステルの生育阻害の作用機構に関して検討した内容を研究経過に沿って述べた。休眠状態の芽胞には作用しないこと、発芽過程には影響せず、発芽後に芽胞内膜に脂肪酸エステルが結合し、膜に欠損を生じることによりコア内容物が漏出した結果、芽胞が死滅し、以降の過程が進行せず増殖できないことが明らかとなった。著者らの研究対象菌は *M. thermoacetica* であり、抗菌剤として脂肪酸エステルに限定されたものであるが、他の芽胞菌や抗菌剤においても同様な機構で作用しているとする研究報告もみられる。芽胞菌の多くは、発芽後に膜が「ゆるんだ」状態になったときに攻撃を受けやすいことが指摘されている。

芽胞菌に関する研究が進み、発芽挙動や種々の物質の抗菌作用の理解が深まりつつある。今後も耐熱性の高い芽胞菌の基礎研究が進み、より緩和した加熱処理条件下で安全性が確保され、風味の優れた食品が製造できる微生物制御技術が開発されることを期待したい。

## <参考文献>

- 1) 中山昭彦：ホットベンダーで問題となる腐敗性高温細菌；伊藤武，森地敏樹編：食品のストレス環境と微生物—その挙動・制御と検出，サイエンスフォーラム，(2004)。
- 2) 松田典彦，駒木勝，松縄桂子：缶・びん詰およびレトルト食品製造用原料の耐熱性嫌気性細菌胞子に

- よる汚染状況. 缶詰時報, 60, 207-212 (1981).
- 3) 渡部一仁: 芽胞細菌の種類と殺滅条件. 防菌防黴, 43, 233-238 (2015).
- 4) 渡部一仁: 細菌スポアのUV抵抗性とスポアコート蛋白質. 防菌防黴, 25, 79-90 (1997).
- 5) 安田陽子, 梶久保邦夫: スポアの発芽と発芽後生育. 防菌防黴, 25, 333-348 (1997).
- 6) Gould, G.W., Russel, A.D., Stewart, D.E.S. ed: Fundamental and Applied Aspects of Bacterial Spores. The Society for Applied Bacteriology Symposium Series, No.23, (1994).
- 7) Setlow, P.: Spore germination. *Curr. Opin. Microbiol.*, 6, 550-556 (2003).
- 8) Moir, A.: How do spores germinate? . *J. Appl. Microbiol.*, 101, 526-530 (2006).
- 9) 遠田昌人: 第2章食品別汚染指標菌と加熱殺菌データ 第2節 清涼飲料, 第3節 缶詰・レトルト食品; 微生物殺菌実用データ集, サイエンスフォーラム (2005).
- 10) 田中光幸: 缶詰・レトルト包装食品の微生物変敗と制御. 防菌防黴, 42, 157-164 (2014).
- 11) 中西弘一: 清涼飲料分野における微生物制御. 防菌防黴, 43, 81-86 (2015).
- 12) 内藤茂三: 食品の変敗微生物—その原因菌と制御—(増補改訂). 幸書房, (2017).
- 13) 青山冬樹, 江寄英剛, 加藤一郎, 佐藤惇, 中山素一, 西尾和晃, 藤田康弘, 藤森亜沙子, 山中実喜子: 高温販売する低酸性飲料用原料の高温性嫌気性有芽胞細菌統一検査手法の開発. 缶詰時報, 96, 499-522 (2017).
- 14) Nakayama, A., Samo, S., Ikegami, Y.: A New Type of Flat Sour Spoilage. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 43, 899 (1977).
- 15) Nakayama, A., Shinya, R.: New Type of Flat Sour Spoilage of Commercial Canned Coffee. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 22, 30-36 (1981).
- 16) Nakayama, A., Kadota, H., Sonobe, J.: Classification and identification of the bacteria causing obligate-anaerobic flat sour spoilage. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 25, 297-309 (1984).
- 17) Nakayama, A., Sonobe, J., Shinya, R.: Effect of Sucrose Esters of Fatty Acids on Flat Sour Spoilage by Obligate Anaerobes. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 23, 25-32 (1982).
- 18) 諏訪信行, 久保田春美, 高橋和子, 町田肇: コーヒー缶詰の耐熱性有芽胞細菌による変敗に対するショ糖脂肪酸エステル添加効果. 日食工誌, 33, 44-51 (1986).
- 19) 諏訪信行, 代田徳子, 町田肇: コーヒー缶詰の高温性有芽胞細菌による変敗に対する乳化剤の添加効果. 日食工誌, 35, 706-708 (1988).
- 20) 池上義昭, 太田智子: シュガーエステルの抗菌作用—1 有芽胞菌に対するシュガーエステルの効果. 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 16, 93-100 (1985).
- 21) 安藤芳明, 砂川紘之, 都築俊文, 亀山邦夫: ショ糖脂肪酸エステルのボツリヌス菌およびウェルシュ菌芽胞の発育に及ぼす影響. 道衛研所報, 第33集, 1-6 (1983).
- 22) Tomida, M., Suwa, N., Machida, H., Nishimura, A., Makino, S.: Inhibition of germination of *Bacillus stearothermophilus* of spores by sucrose monoalkylates and other surfactants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 38, 1044-1049 (1991).
- 23) Moriyama, R., Sugimoto, K., Miyata, S., Kasturagi, T., Makino, S.: Antimicrobial action of sucrose esters of fatty acids on bacterial spores. *J. Antibact. Antifungal. Agents*, 24, 3-8 (1996).
- 24) 中山素一, 藤本章人, 樋口彰, 渡辺誠, 貞苺季代子, 飯尾雅嘉, 宮本敬久: 畜肉エキスにおける脂肪酸エステル類の抗菌効果. 日食科工誌, 50, 537-545 (2003).
- 25) 小林哲也, 青山好男: *Moorella thermoacetica* に対するショ糖脂肪酸エステルの抗菌効果. 防菌防黴, 40, 547-553 (2012).
- 26) 青山好男: 耐熱性芽胞形成菌の検出・同定法とその汚染の制御に関する最近の話題. 防菌防黴, 45, 323-330 (2017).
- 27) 遠田昌人, 池上義昭, 加瀬谷マリ, 小池寿美江: *Clostridium thermohydrosulfuricum* に対する乳化剤の抗菌作用. 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 19, 167-173 (1992).
- 28) 青山好男: *Moorella thermoacetica* 芽胞の発芽挙動. 東洋食品研究所研究報告書, 30, 49-54 (2014).

- 29) 青山好男 : *Moorella thermoacetica* 芽胞の発芽誘起剤と発芽阻害. 東洋食品研究所研究報告書, 30, 55-61 (2014).
- 30) 近藤雅臣, 渡部一仁 : スポア実験マニュアル—微生物の芽胞・胞子の基礎研究から応用研究まで. 技報堂出版 (1995).
- 31) Billon, C.M., McKirgan, C.J., McClure, P.J., Adair, C. : The effect of temperature on the germination single spores of *Clostridium botulinum* 62A. *J. Applied Microbiol.*, 82, 48-56 (1997).
- 32) Setlow, P. : Germination of spores of *Bacillus species*: What we know and do not know. *J. Bacteriol.*, 196, 1297-1305 (2014).
- 33) 戸田義郎, 門田則昭, 加藤友治 : 食品用乳化剤—基礎と応用—. 光琳 (1997).
- 34) Cowan, A.E., Olivastro, E.M., Koppel, D.E., Loshon, C.A., Setlow, B., Setlow, P. : Lipids in the inner membrane of dormant spores of *Bacillus species* are largely immobile. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 7733-7738 (2004).
- 35) Sunde, E.P., Setlow, P., Hederstedt, L., Halle, B. : The physical state of water in bacterial spores. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 19334-19339 (2009).
- 36) Omardien, S., Drijfhout, J.W., Zaat, S.A.J., Brul, S. : Cationic Amphipathic antimicrobial peptides perturb the inner membrane of germinated spores thus inhibiting their outgrowth. *Front. Microbiol.*, 26 (2018).
- 37) Omardien, S., Beek, A.T., Vischer, N., Montijn, R., Schuren, F., Brul, S. : Bactericidal activity of amphipathic cationic antimicrobial peptides involves altering the membrane fluidity when interacting with the phospholipid bilayer. *Biochim Biophys Acta Biomembr.*, 1860, 2404-2415 (2018).
- 38) Byrer, D.E., Rainey, F.A., Wiegel, J. : Novel Strains of *Moorella thermoacetica* form unusually heat-resistant spores. *Arch. Microbiol.*, 174, 334-339 (2000).
- 39) Pierce, E. et al : The complete genome sequence of *Moorella thermoacetica* (f. *Clostridium thermacetivum*). *Environ Microbiol.*, 10, 2550-2573 (2008).
- 40) 池上義昭, 太田智子 : シュガーエステルの抗菌作用—II シュガーエステルの抗菌作用に及ぼす諸因子. 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 16, 101-105 (1985).
- 41) 池上義昭, 中尾マリ, 村山寿美江, 後藤隆子 : 好熱性細菌に対する乳化剤の抗菌作用. 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 17, 65-75 (1987).
- 42) 朝賀昌志, 遠田智江 : 脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害. 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 27, 71-76 (2009).
- 43) 朝賀昌志, 遠田智江 : アミロースの脂肪酸エステル複合体形成と静菌作用阻害. 東洋食品工業短期大学紀要, 4, 11-17 (2017).

## 略歴

### 青山 好男(あおやま よしお)

1975 年 京都大学農学研究科食品工学 修了  
 1975 年 東洋製罐株式会社 入社  
 1991 年 財団法人東洋食品研究所 生物化学室長  
 2000 年 財団法人東洋食品研究所 研究部長  
 2003 年 東洋食品工業短期大学 教授・学科長  
 2007 年 財団法人東洋食品研究所 主席研究員  
 2015 年 退職

[受賞] 日本缶詰協会技術賞受賞



# 「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」の科学的根拠（エビデンス）

早稲田大学  
スポーツ科学学術院

澤田 亨



## 要 旨

厚生労働省は2013年4月に「21世紀における国民健康づくり運動（第二次）」をスタートした。この「健康日本21（第二次）」では、「身体活動・運動」分野に関して、「歩数の増加」、「運動習慣者の割合の増加」、「運動しやすいまちづくり・環境整備に取り組む自治体の増加」といった3つの目標が掲げられた。また、厚生労働省は、2013年3月に「健康日本21（第二次）」を達成するためのツールのひとつとして、「健康づくりのための身体活動基準2013」および「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」を発表した。「健康づくりのための身体活動基準2013」に基づいて作成されたアクティブガイドは、日々の生活における身体活動を増加させるためのキャッチワードとして「+10（プラス・テン）」を紹介した。この「プラス・テン」は日常生活において今よりも10分多く身体を動かすことを奨励するものであり、いくつかの先行研究が「プラス・テン」の効果に科学的根拠（エビデンス）を与えている。さらに、アクティブガイドは18歳から64歳の成人に対して60分以上の中強度以上の身体活動を奨励している。そしてまた、週合計60分の強度の高い運動を奨励している。また、65歳以上の高齢者に対しては、立ったり、ゆっくり歩いたり、家事を行うなどの強度の低い身体活動を毎日40分実施することを奨励している。これらの科学的根拠に基づいたガイドラインが国民の健康寿命の延伸に貢献することが期待される。

\* \* \* \* \*

## <Summary>

The Ministry of Health, Labor and Welfare had started the "National Health Promotion Movement in the 21st Century 2nd edition" which is called "Health Japan 21 (2nd edition)" from April 2013. In the "Physical activity and exercise" section in Health Japan 21 (2nd edition), there are 3 targets such as increasing daily steps, increasing the number of people who have an exercise habit, and increasing municipalities which engage in community development and environmental improvement to make it easy to do physical activity. Moreover, the Ministry of Health, Labor and Welfare had presented the "Physical Activity Reference 2013 for health promotion" and the "Physical Activity Guideline (Active Guide)" in order to assist Health 21 (2nd edition) in March 2013.

The Active Guide based on "physical activity reference 2013" introduced "+10 (Plus Ten)" as a catchword for encouraging daily physical activity. Plus Ten involves 10 minutes of increasing daily physical activity, especially walking. Several epidemiological studies scientifically supported the words of "+10 (Plus Ten)" for prevention of

Evidence of Physical Activity Guideline (Active Guide) for Health Promotion

SUSUMU S. SAWADA  
Faculty of Sport Sciences,  
Waseda University

non-communicable diseases. Moreover, the Active Guide recommended over 60 minutes of moderate physical activity, such as walking every day and vigorous exercise 60 minutes per week for people aged 18 to 64. Furthermore, it recommended 40 minutes of light physical activity, such as standing, walking, or housework every day for people over 65 years of age.

We hope these evidence-based physical activity guidelines will contribute to increasing healthy life expectancy.

## 1. はじめに

2013年4月、厚生労働省は21世紀における国民健康づくり運動である「健康日本21」の第二次の取り組みをスタートした。健康日本21（第二次）が解決を目指す2つの課題は「健康寿命の延伸」と「健康格差の是正」である。そして、健康日本21（第二次）における「身体活動・運動」の分野では、具体的な目標として、「歩数の増加」、「運動習慣者の割合の増加」、「運動しやすいまちづくり・環境整備に取り組む自治体の増加」といった3つの目標が掲げられた。「歩数の増加」に関して、第一次の取り組みに関する最終評価では、1,000歩増加という目標に対して1,000歩減少という厳しい結果であったが、第二次においても1,000歩増加というチャレンジングな目標が設定された。このチャレンジングな目標達成のために厚生労働省は、「歩数増加」を達成するためのツールとして、「健康づくりのための身体活動基準2013」<sup>1)</sup>および「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」を発表した（図1）<sup>2)</sup>。「健康づくりのための身体活動基準2013」に基づいて作成された指針（アクティブガイド）では、身体活動、特に歩数を増加させるためのキャッチワードとして「+10（プラス・

テン）」（以下、プラス・テン）を掲げた。

（アクティブガイドは厚生労働省のホームページからPDF版が入手可能である）<sup>2)</sup>

## 2. 体力と健康寿命

アクティブガイドの表紙には健康寿命の延伸を達成するための身体活動・運動に関するキーワードである「健康寿命」と「ロコモ」の解説が記載されている。健康寿命は、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間である。また、ロコモ（ロコモティブシンドローム）は、骨や関節の病気、筋力の低下、バランス能力の低下によって転倒・骨折しやすくなることで、自立した生活ができなくなり介護が必要となる危険性が高い状態である。筋力が一定レベル以上低下すると自立した生活ができなくなり日常生活が制限される。例えば、立ち上がるための体力（脚筋力）が一定レベル以上低下すると立ち上がれなくなり、寝たきりになる、つまり介護が必要となる危険性が高まる。ロコモチャレンジ推進協議会はロコモ度をテストする体力測定の方法として「立ち上がりテスト」と「2ステップテスト」を紹介している<sup>3)</sup>。Yoshimuraらは1,575人の男女を対象に普通の高さ（40cm）の椅子から片足で立ち上がれるかどうかのロコモ度テストを実施し、40歳未満でも女性の11%、男性の4%が立ち上がれなかったと報告している<sup>4)</sup>。さらに50~59歳では女性の24%、男性の16%が立ち上がれなかったと報告している。片足で立ち上がれない先には両足で立ち上がれない状況が待っており、両足で立ち上がれない先には寝たきりが待っていると考えられる。健康寿命の終わりは突然やってくるわけではなく、身体活動量や運動量の低下に伴って日常生活を営むのに必要な体力レベルが低下し、徐々に日常生活が制限されていくのである。



図1 健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）

Figure 1 Physical Activity Guideline (Active Guide)

### 3. 「運動処方的アプローチ」から「公衆衛生的アプローチ」への転換

アクティブガイドの表紙には「ふだんから元気からだを動かすことで、糖尿病、心臓病、脳卒中、がん、ロコモ、うつ、認知症になるリスクを下げることができます。例えば、今より10分多く、毎日からだを動かしてみませんか」と記載されている。そしてキャッチフレーズとして「プラス・テンで健康寿命をのばしましょう！」が記載されている。たった10分間からだを動かすことによって得られる効果は個人にとってはとても小さいものだと考えられるが、社会全体にとっては決して小さな効果ではないと考えられる。「プラス・テン」には、1,000歩増加という目標に対して1,000歩減少という厳しい結果であった前回（第一次）の反省が込められている。アメリカスポーツ医学会は古くから機会あるたびに“Remember that some activity is better than none, and even small amounts bring health benefits”というキャッチフレーズを発信している。「やらないよりはやった方がよい」というキャッチフレーズはひとりでも多くの人々にメッセージを届けようという公衆衛生的なアプローチであり、個人を対象とした運動処方としてしばしば用いられる「運動の種類・強度・時間・頻度」といった実験によって効果が確認されている条件を提示するアプローチとは大きく異なるメッセージである。「プラス・テン」は運動処方として提示される条件のうち、多くの人が実施できるかも知れないと感じる「10分」という時間が提示されている以外には何も提示せず、ひとりでも多くの人に（少しでも）アクティブになっていただきたいという思いがこもったキャッチワードである。そして、(もちろん) このキャッチワードには科学的根拠（以下、エビデンス）が存在する（後述）。

### 4. 「運動」から「身体活動」への転換

先にも述べたように、アクティブガイドは「健康づくりのための身体活動指針」の別名である。2006年に厚生労働省が発表したエクササイズガイドは「健康づくりのための運動指針」の別名であり、国民の身体活動を奨励するガイドラインの名称が「エクササイズガイド」から「アクティブガイド」に変わった。変化の理由は、こ

れまで使用していた「運動」というキーワードが「身体活動」に変わったことによる。運動は「スポーツなど、特に体力の維持・向上を目的として計画的・意図的に実施し、継続性のある活動」と定義されている<sup>1)</sup>。一方で、身体活動は「安静にしている状態よりも多くのエネルギーを消費する全ての動作」と定義されている<sup>1)</sup>。つまり、体力の維持・向上を目指した健康づくりにとって効果的と考えられる「運動」から、ひとりでも多くの人々が実施できるかも知れないと感じる「身体活動（からだを動かす全ての動作）」に名称を変更したのである。このことは「プラス・テン」と同様に「ひとりでも多くの人々にメッセージを届けようという公衆衛生的なアプローチ」の考えが背後に存在している。

「健康日本21（第二次）」における1,000歩増加というチャレンジングな目標に対して「プラス・テン」というキャッチワードや「身体活動」といったキーワードを使用して前回（第一次）と異なるアプローチを展開しているのである。

### 5. 「運動」と健康アウトカムに関するエビデンス

2014年、体力の維持・向上を目的として計画的・意図的に実施した「運動」が心臓病を全く予防しなかったという衝撃的な研究がトップジャーナルに発表された<sup>5)</sup>。「未来を向いて（The Look AHEAD）」と名付けられた大規模な介入研究（ランダム化比較試験）であったが、その結果は下を向いてしまうような結果であった。肥満で2型糖尿病に罹患している5,145人が研究に参加し、運動と栄養の指導を受けるグループと対照群の2群にランダムに分類され、約10年間追跡された。運動と栄養の指導を受けたグループは7%以上の減量をするべくカロリー制限と運動の指導がなされ、研究開始1年後には体力が著しく向上したが4年後にはほぼ元の体力レベルに戻っていた（図2）。目標とした体重に関して1年後は8%の低下、研究終了時点で6%の低下であり、まずまずの結果であったが、予防しようと考えていた心血管疾患の累積罹患率は追跡期間中、両群にまったく差が認められなかった（図3）。本研究は2型糖尿病に罹患した米国人を対象にした研究であり、この結果が日本人の2型糖尿病患者や健常者に適応できるかどうか不明である。しかしながら、最も質の高いエビデンスを提供

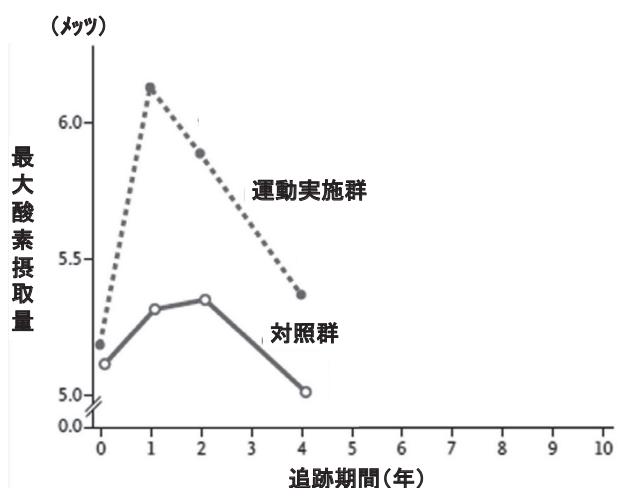


図2 追跡期間中の体力の変化

Figure 2 Change in physical fitness of intervention and control groups during follow-up period.

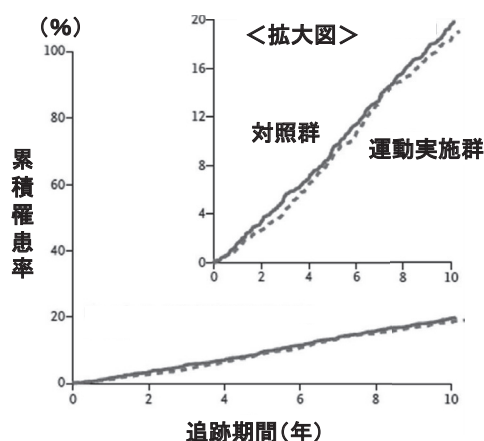


図3 心臓病新規罹患の累積ハザード曲線

Figure 3 Cumulative hazard curves for the incidence of heart diseases.

すると考えられている大規模なランダム化比較試験（介入研究）の結果であり、「運動」による短期的な体力の向上だけでは健康寿命の延伸に貢献できず、効果は薄くても長期的に継続できるような身体活動の奨励が必要かもしれない、今後引き続き、このような大規模な介入研究の結果に注目していく必要があると考えられる。

## 6. 「身体活動」や「プラス・テン」と健康アウトカムに関するエビデンス

「身体活動」や「プラス・テン」については、The Look AHEAD のような大規模な質の高い介入研究は報告されておらず、いずれも大勢の研究参加者を長期間観

察する観察研究（コホート研究）の結果を紹介する。介入研究の結果ではなく、観察研究の結果であることから「身体活動」を実施すればどうなるか？あるいは「プラス・テン」を実施すればどうなるか？といった疑問に答える研究ではなく、「身体活動」をしている人の数年後はどうだったのか？や「プラス・テン」している人の数年後はどうだったのか？に対する疑問に答えている研究である。

2011年、台湾から416,175人を対象とした大規模なコホート研究の結果が発表された<sup>6)</sup>。研究参加者は質問紙によって身体活動量が調査され、5群（不活動・低活動・中活動・高活動・超高活動）に分類された。そして平均8年間追跡され、追跡期間中における死亡が調査された。追跡期間中に5,688人が亡くなった。多変量回帰モデルを使用して各群の年齢、性別、BMI、教育レベル、業務における身体活動量、喫煙習慣、飲酒習慣、家族歴（糖尿病・高血圧・がん）、空腹時血糖、総コレステロール、拡張期血圧の違いを調整した後、不活動群を基準とした場合の他の群の相対危険度（比例ハザード比）が算出された。その結果、身体活動量が多いほど追跡期間中の死亡の相対危険度が低いことが示された（図4）。研究者たちは、1日の身体活動時間を横軸に、死亡減少率を縦軸にした身体活動量と寿命の関係を示したグラフを公表している（図5）。このグラフでは高強度の身体活動と中強度の身体活動という強度別にみた身体活動と寿命の関係を示している。高強度の身体活動は多くの場合、体力の維持・向上を目的として計画的・意図的に実施した「運動」であり、1日の実施時間が比較的短くても死亡減少率は急激に高くなる（死亡率が低くなる＝身体活動実施の効果が大きい）。一方で、中強度の身体活動（例えば歩行）は高強度の身体活動と比較して死亡減少率の

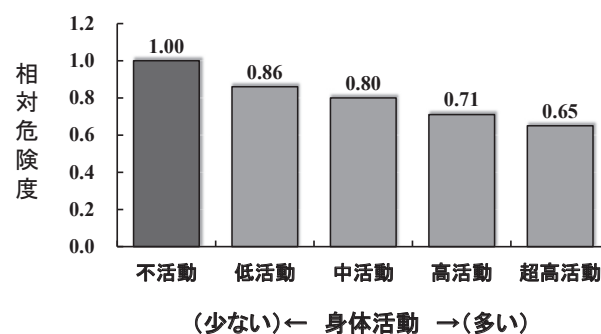


図4 身体活動量と死亡率の関係

Figure 4 Physical activity duration and risk for mortality



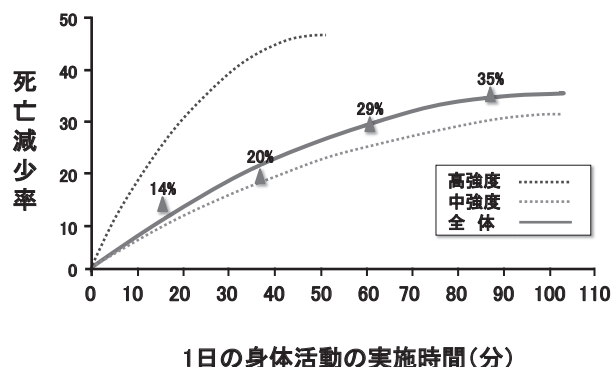


図5 身体活動量と死亡減少率

Figure 5 Physical activity duration and mortality reduction

増加（死亡率の低下）は緩やかである（＝身体活動実施の効果は小さい）。しかしながら、身体活動の実施時間が長くなれば死亡減少率が上昇していくという「量反応関係（dose-response relationship）」があるのである。これまでに報告されている身体活動量と健康アウトカム（寿命や疾病罹患）に関する（ほぼすべての）研究結果は、この「量反応関係」が観察されているため、アメリカスポーツ医学会は“Remember that some activity is better than none, and even small amounts bring health benefits”と言い続けているのである。つまり、「やらないよりはやった方がよい」というキャッチフレーズはひとりでも多くの人々にメッセージを届けようという公衆衛生的なアプローチであると同時に、「量反応関係」というエビデンスに基づいたキャッチフレーズなのである。そして、「プラス・テン」も、これまでに報告されている身体活動量と健康アウトカムに関する研究を調べつくして、量反応関係を確認したうえで作成されたキャッチワードであり、また、「プラス・テンで健康寿命をのばしましょう！」も同様にエビデンスに基づいたキャッチフレーズである。

図6と図7はいずれも「プラス・テン」のエビデンスであり、明確な「量反応関係」を報告した研究である<sup>7,8)</sup>。図6は日本人の男性労働者を対象に、通勤における片道の歩行時間と高血圧発症の関係を調査した観察研究（コホート研究）の結果である。1981年から1990年の間に7,979人の男性労働者（35歳～63歳）がこの研究に参加している。そしてこの研究参加者からすでに高血圧に罹患している可能性がある人や血糖値が高い人が除かれ、6,104人が追跡対象者となった。さらに、追跡期間中に健康診断を受診しなかった87人が除かれ、最終的

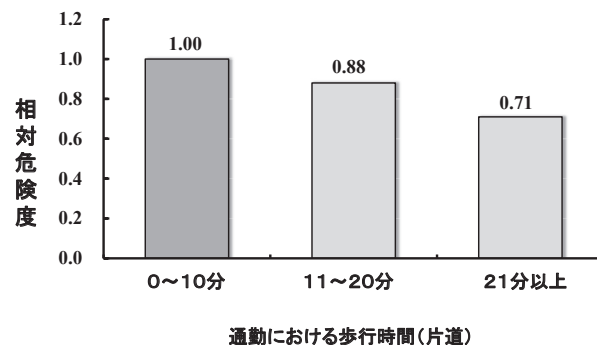


図6 通勤における歩行時間と高血圧罹患の関係

Figure 6 Walking to work and risk for hypertension

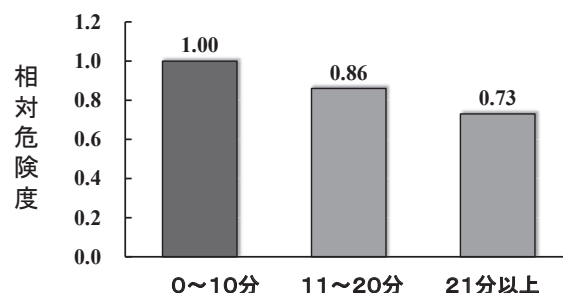


図7 通勤における歩行時間と糖尿病罹患の関係

Figure 6 Walking to work and risk for diabetes

に6,017人が本研究の解析対象者となった。この解析対象者は追跡開始時点における質問紙調査によって通勤における歩行時間が調査され、3群に分類された（0～10分の群・11～20分の群・21分以上の群）。それぞれの人数は3,066人・2,373人・578人であった。そして、3群とも約10年間追跡されて追跡期間中の高血圧罹患者が把握された。追跡期間中に626人が新たに高血圧に罹患した。追跡開始時点における各群の年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、余暇身体活動量、空腹時血糖、収縮期血圧、拡張期血圧が調整され、通勤における歩行時間が「0～10分の群」を基準とした場合の他の群の相対危険度（比例ハザード比）が算出された<sup>7)</sup>。

先に述べたように、本研究は観察研究であり、介入研究の結果ではないことから「プラス・テン」を実施すればどうなるか？ といった疑問に直接答えられる研究ではない。したがって拡大解釈の危険があるが、以下のように解釈できる可能性はある。それは、「0～10分の群」が「プラス・テン」すると相対危険は1.00（基準）から0.88に12%低下するという可能性である。あるいは「11～20分の群」が「プラス・テン」すると相対危険度は0.88から0.71に17%低下するという可能性である。

図6は健康アウトカムとして高血圧を対象にしているが、図7は糖尿病を対象にした研究である<sup>8)</sup>。同じ研究室から報告された研究結果であることから研究方法は図6と極めて類似しているが、図6とは異なる会社の労働者が対象となった観察研究（コホート研究）である。2000年から2001年の間に12,647人の男性労働者（40歳～55歳）がこの研究に参加している。そしてこの研究参加者から糖尿病に罹患している人や血糖値が高い人が除かれ、11,073人が追跡対象者となり4年間追跡された。最終的には4年間の追跡ができなかった人やデータが欠損していた人も除かれて8,576人が本研究の解析対象者となった。先の研究と同様に、質問紙調査によって通勤における歩行時間が調査され、3群に分類された（0～10分の群・11～20分の群・21分以上の群）。それぞれの人数は1,698人・4,491人・2,387人であった。そして追跡期間中に878人が新たに糖尿病に罹患した。追跡開始時点における各群の年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、余暇身体活動量、空腹時血糖、糖尿病家族歴が調整され、通勤における歩行時間が「0～10分の群」を基準とした場合の他の群の相対危険度（オッズ比）が算出された。そして、拡大解釈の危険を承知で図6と同様に解釈すると「0～10分の群」が「プラス・テン」すると相対危険は1.00（基準）から0.86に14%低下し、「11～20分の群」が「プラス・テン」すると相対危険度は0.86から0.73に13%低下する可能性がある。

## 7. 身体活動基準

アクティブガイドには「健康づくりのための身体活動基準2013」において示された個人の健康づくりのための身体活動基準がわかりやすく記載されている。具体的には、18歳から64歳の成人においては「元気にからだを動かしましょう。1日60分!」、65歳以上の高齢者においては「じっとしていないで、1日40分!」である。もちろんこれらの基準の後ろにはシステマティックレビューによって吟味された膨大なエビデンスが存在している。

身体活動基準を作成するために、厚生労働省科学研究班（班長：宮地元彦）によってシステマティックレビューが実施された<sup>1)</sup>。具体的には、PubMedと医中誌を対象にして身体活動と健康アウトカムに関連するスポーツ疫

学研究を検索し、6,533本の論文を確認した。そして、これらの論文を吟味して205本の論文を身体活動基準作成のためのエビデンスとして採用した。さらに前回の基準（運動基準2006）で採択された論文のうち、今回作成する身体活動基準に合致する論文62本を加えた合計267本を最終的なエビデンスとして採用した。システマティックレビューによって採用されたこれらの論文を対象に、各文献の結果を統合して統計解析をおこなうメタ解析の手法を用いて新たな基準値が策定された。

「健康日本21（第二次）」は基本的な方向として、第一に健康寿命の延伸と健康格差の縮小を掲げている。健康寿命の延伸を目的にした身体活動の実践が心疾患、脳卒中、あるいはメタボリックシンドロームなどの生活習慣病関連疾患だけでなく、運動器症候群や認知症の予防に貢献するかどうかを検討するため、これらの健康アウトカムもレビューされた。この結果を受けて、アクティブガイドの表紙には「ふだんから元気にからだを動かすことで、糖尿病、心臓病、脳卒中、がん、ロコモ、うつ、認知症になるリスクを下げることができます。例えば、今より10分多く、毎日からだを動かしてみませんか」と記載しているのである。

## 8. まとめ

内閣官房行政改革推進本部は、「証拠に基づく政策立案」としてEBPM（evidence-based policy making）を推進している。証拠に基づく政策立案は効果が期待できるものであり、行政の国民に対する説明責任（アカウンタビリティ）を果たすうえでもEBPMは重要である。

近年、身体活動と健康に関する政策の方向性を示すさまざまなガイドラインが報告されている。例えば、文部科学省が2012年に発表した「幼児期運動指針」、厚生労働省が2013年に発表した「健康日本21（第二次）」・「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」・「健康づくりの身体活動基準2013」、スポーツ庁が2018年に発表した「スポーツ推進アクションガイド」などである。

これまで紹介してきたように「健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）」や「健康づくりの身体活動基準2013」はまさにEBPMであり、これらのガイドラインが国民の健康寿命の延伸に貢献することが期



待される。

## <参考文献>

- 1) 厚生労働省. 運動基準・運動指針の改定に関する検討会報告書：健康づくりのための身体活動基準 2013.  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002xple-att/2r9852000002xpqt.pdf>
- 2) 厚生労働省. 健康づくりのための身体活動指針（アクティブガイド）  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002xple-att/2r9852000002xpr1.pdf>
- 3) コロモチャレンジ推進協議会. ロコモ度テスト.  
<https://locomo-joa.jp/check/test/>
- 4) Yoshimura N, Muraki S, Oka H, et al. Association between new indices in the locomotive syndrome risk test and decline in mobility: third survey of the ROAD study. J Orthop Sci. 2015 Sep;20(5):896-905. Erratum in: J Orthop Sci. 2015 Sep;20(5):906.
- 5) Look AHEAD Research Group, Wing RR, Bolin P, Brancati FL, Bray GA, et al. Cardiovascular effects of intensive lifestyle intervention in type 2 diabetes. N Engl J Med. 2013 Jul 11;369(2):145-54.
- 6) Wen CP, Wai JP, Tsai MK, et al. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. Lancet. 2011 Oct 1;378(9798):1244-53.
- 7) Hayashi T, Tsumura K, Suematsu C, et al. Walking to work and the risk for hypertension in men: the Osaka Health Survey. Ann Intern Med. 1999 Jul 6;131(1):21-6.
- 8) Sato KK, Hayashi T, Kambe H, et al. Walking to work is an independent predictor of incidence of type 2 diabetes in Japanese men: the Kansai Healthcare Study. Diabetes Care. 2007 Sep;30(9):2296-8.

---

## 略歴

澤田 亨(さわだ すすむ)

1983 年 福岡大学体育学部 卒業  
1985 年 順天堂大学大学院体育学研究科 修了  
1985 年 東京ガス株式会社 人事部  
2012 年 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 室長  
2018 年 早稲田大学 スポーツ科学学院 教授  
現在に至る

# 脳機能を支える身体活動と栄養

首都大学東京大学院  
人間健康科学研究科  
スポーツ神経科学研究室

西島 壮



## 要 旨

認知症やうつ病などの精神疾患の予防には、適切な運動と栄養が重要となる。本稿では、運動が脳機能を向上させる神経メカニズムについて、これまで重点的に研究されてきた神経可塑性の観点に加えて、特に血管可塑性の関与に着目して概説する。これは、栄養が脳機能改善に及ぼす効果発現メカニズムや、運動と栄養の相乗作用（相互作用）を考える際に、脳血管系がより重要になると考えられるからである。さらに本稿の後半では、運動(exercise)ではなく身体活動(physical activity)に着目し、脳機能を損なう危険因子としての不活動(physical inactivity)についてまとめる。そして最後に、栄養が身体活動性に影響する要因であることから、「身体活動と栄養は、それぞれ独立して健康に影響する」という従来の考え方に加え、「栄養は、身体活動を介して健康に影響する」という新たな考え方を提唱し、今後の展望について私見を述べたい。

\*\*\*\*\*

## <Summary>

It is widely accepted that exercise and diet are both critical for preventing neuropsychological diseases, including dementia and depression. To understand the underlying mechanisms of exercise-induced improvement in brain function, most of the studies so far have focused on the aspects of neuronal plasticity; however, we highlight the fact that exercise can improve cerebrovascular plasticity as well. This point of view would be important to further understand the mechanisms how diet improves brain function, and to examine whether exercise and diet confer synergistic effect and their interaction. In the latter parts, we refer to the difference between exercise and physical activity, then, underscore physical inactivity as a risk factor for brain function. As for future perspective, because diet can affect physical activity of rodents, we propose a new hypothesis that diet affects brain function through changes in the amount of physical activity.

## 1. はじめに

現在、世界中で3秒に1人が新たに認知症と診断され、その患者数は今後20年ごとに約2倍のペースで増加すると推計されている<sup>1)</sup>。国内においても認知症患者数は増加の一途をたどり、要介護原因の第2位（1位は脳血管疾患）となった（高齢社会白書、厚生労働省、2016）。その社会的・経済的コストも甚大であることから、予防法の確立は極めて重要な課題となっている。

認知症の予防には、1) 認知予備力の増加、2) 脳損傷の軽減、3) 神経炎症の軽減、の3つのアプローチが鍵になると考えられている（図1<sup>2)</sup>。なおここでいう認知予備力とは、脳の体力のような考え方であり、脳（神経細胞）がダメージを負っても柔軟に対処できる（機能を代償できる）抵抗力のことをさす。この認知予備力の高い者ほど、脳内では神経病態が進行していたとしても認知機能の低下が顕在化しにくい<sup>3)</sup>。そしてここで注目すべきは、3つのアプローチのいずれに対しても運動が有効であることが、科学的に示されている点である。同様に2011年に発表されたNature誌の記事においても、認知症予防に有効なライフスタイルとして運動が最善である（Activity is the best medicine）と述べられている<sup>4)</sup>。

このように、運動と脳に関する最新の神経科学研究の成果により、運動が身体機能（筋力、有酸素能力など）と同様に脳機能をも高めることが明らかとなった。そこで本稿では、運動が脳機能をも高めるメカニズムについて概説し、特に脳血管系の関与について言及する。これは、栄養が脳機能改善に及ぼす効果発現メカニズムや、運動

と栄養の相乗作用（相互作用）を考える際に、脳血管系がより重要になると考えられるからである。そして後半は、運動ではなく身体活動に着目し、身体活動性に影響を及ぼす栄養と、それによる脳機能への影響について、今後の展望も踏まえまとめた。

## 2. 運動が脳機能をも高める神経・分子メカニズム

図2に、習慣的な運動が認知予備力を高める神経・分子メカニズムを示した。なお、運動が脳（生体）に及ぼす影響は、単回の運動に対する急性的な反応と、長期間の習慣的な運動により生じる適応とを分けて考えることが重要となるが、本稿では後者についてまとめている。

これまで多くの研究が、運動が神経可塑性を高めることを報告してきた<sup>5)</sup>。最も良く知られているのが、脳由来神経栄養因子（brain-derived neurotrophic factor, BDNF）を代表とする栄養因子の発現増加である。BDNFはTrk-B受容体を介して複数の細胞内シグナル伝達経路を活性化し、細胞の増殖や分化、生存、樹状突起の伸長などに関与している。BDNF以外にも、運動により神経成長因子（nerve growth factor, NGF）、ニューロトロフィン-3（neurotrophin-3, NT-3）、インスリン様成長因子-1（insulin-like growth factor-1, IGF-1）など、様々な栄養因子が増加する。また、運動は海馬における神経新生を促進することも広く知られている。運動が記憶・学習能力の向上や認知症の予防に効果を発現する背景には、これら栄養因子の増加や海馬神

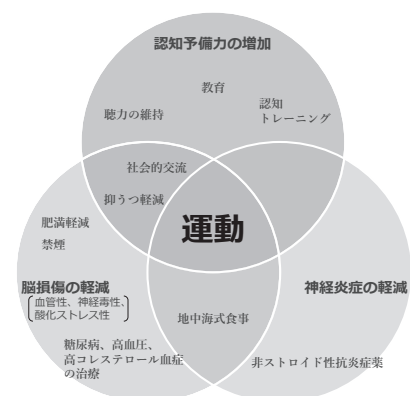


図1 認知症予防のための3つの戦略（文献2を基に作図）

Figure 1 The key three strategies for preventing dementia

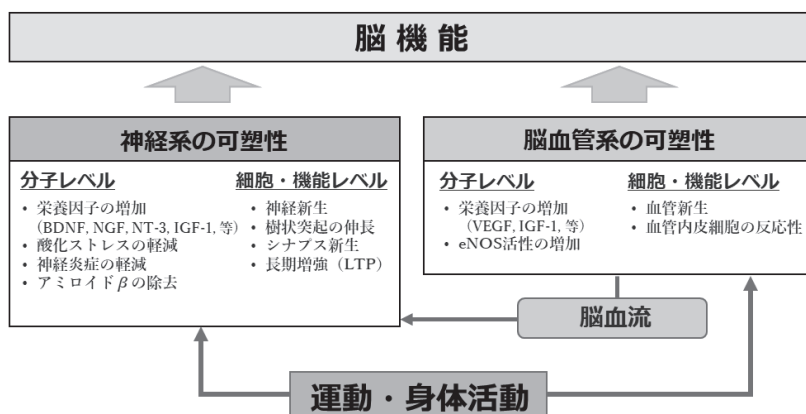


図2 運動・身体活動が脳機能を向上するメカニズム

Figure 2 The underlying mechanisms of exercise and physical activity on brain function

経新生の促進が関与すると考えられている<sup>6)</sup>。その他、酸化ストレスや神経炎症の軽減、アミロイド $\beta$ のクリアランスを高めることなども報告されている。

このように、運動による脳機能向上のメカニズムを神経可塑性の視点から理解することはもちろん重要である。しかしながら、脳（中枢神経系）は神経細胞だけでなく、グリア細胞（アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア）に加えて、細胞に酸素やエネルギーを供給する血管系の存在を無視することはできない。そして運動は脳血管系の可塑性を高めることも報告されており、例えば、運動は血管内皮成長因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）や IGF-1 の発現増加を介して、血管新生を促進する。また血管内皮型一酸化窒素合成酵素（endothelial nitric oxide synthase, eNOS）の活性化などにより、血管内皮細胞の反応性（脳血流調節能力）が高まる<sup>7)</sup>。実際、習慣的な運動を実施している高齢者は、安静時の脳血流が多い<sup>8)</sup>。すなわち、運動は神経系と脳血管系の可塑性を協調的に高め、それにより脳は老化に伴うダメージを軽減し、認知機能の低下や精神・神経疾患の発症を遅らせることができると考えられる。

### 3. 脳血流の調節（神経－血管連関）と栄養

ここで、脳機能を支える脳血管系（脳血流）の重要性について、改めて簡単にまとめたい。脳は多量のエネルギー（酸素、グルコース）を消費する臓器であり、その重量は体重の約 2 %（成人の場合 1.2～1.4 kg）にもかかわらず、心臓から拍出された血液の約 15 % が脳に届けられる。また脳は虚血に対して極めて弱く、脳血流が数分間途絶えると不可逆的で深刻なダメージを負ってしまう。一方、脳血流は神経活動が高まった部位で局所的に増加するよう調節されており、これを神経－血管連関（neuro-vascular coupling）と呼ぶ。この神経－血管連関は血管内皮細胞および血管平滑筋により巧みに調節されており、これにより限られた血液を必要な脳部位へと効率的に届けることができる。

ラットに高脂肪食を与えると、この神経－血管連関の機能が低下することが報告されている<sup>9)</sup>。実験では、若齢ラットに高脂肪食（45 %）を 8 週間与え、通常食を与えたラットと神経－血管連関の機能を比較した。ラッ

トのヒゲを刺激すると、その感覚情報が入力する体性感覚野（パレル皮質）の脳血流は直ちに増加するが、対照群と比較し高脂肪食群では脳血流の増加率が有意に低下していた。すなわち、高脂肪食を長期間摂取すると、神経－血管連関が阻害され、刺激（神経活動）の強度が同じであっても脳血流が十分に増加しない、すなわち「需要と供給のミスマッチ」が生じることを示している。

脳において、この需要（神経活動の活性化）と供給（脳血流の増加）のミスマッチが長期化すると、慢性的にエネルギー不足の状態となり、結果的に神経可塑性の低下につながる。実際、高脂肪食（高コレステロール血症）は認知症の主要な危険因子のひとつであり、そのメカニズムにはこの神経－血管連関の機能低下が関与する可能性が考えられる。すなわち、神経－血管連関の機能維持は、認知症を予防するための鍵となる<sup>10)</sup>。この神経－血管連関の機能を改善する栄養素（機能性食品）に関する研究もおこなわれており、これまで老化に伴う神経－血管連関の阻害がレスベラトロール（植物由来ポリフェノール）の摂取により改善する可能性が報告されている<sup>11)</sup>。

### 4. 脳機能に対する運動と栄養の相乗作用

上述のように、運動と栄養のどちらも脳機能に影響を及ぼすことから、「運動による脳機能改善効果を栄養により高めることができるか？」と考えることは、至極当然のことであろう。実際、運動は神経系に、栄養は脳血管系により強く影響を及ぼし、相乗的・相補的に脳機能を高めうるという可能性は以前から指摘されている（図 3）<sup>12)</sup>。しかしながら著者が知る限り、脳機能に対する運動と栄養の相乗効果に関する研究は、残念ながらほとんど進展していない。一方で我々は、運動による脳機能改善効果（神経細胞の新生）が、抗酸化物質摂取により阻害される可能性を見出している（未発表データ）。活性酸素種（reactive oxygen species, ROS）は、一般的には酸化ストレスの元凶として知られているが、運動による生体の適応をもたらすシグナル分子として働いている可能性も報告されている<sup>13)</sup>。すなわち、抗酸化物質摂取による ROS 抑制が生体に有益な効果をもたらすとは必ずしも言えない。このように、脳機能に対する運動と栄養の効果は単純な足し算で理解できるものではなく、その相互作用に着目し、さらに研究を積み重ねてい



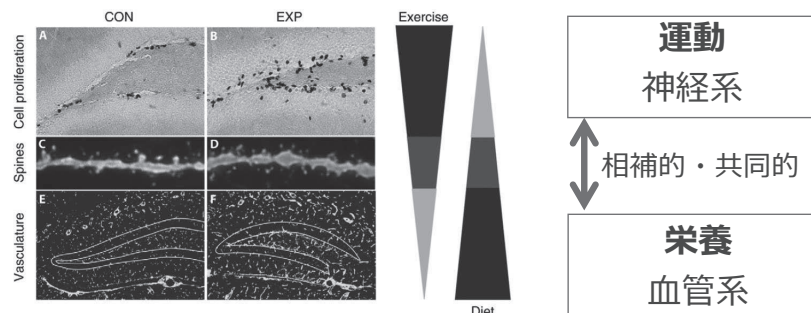


図3 脳機能に対する運動と栄養の相乗効果（文献12を基に引用・作図）  
Figure 3 Synergistic effects of exercise and diet on brain function

ることが重要であろう。

## 5. 運動と身体活動：身体不活動の弊害を知る

生活習慣の中に運動を積極的に取り入れることは、生活習慣病の予防や健康増進にとって極めて有益である。そこで、我が国の健康増進運動の中核である「健康日本21」において、第1次（2000～2012年）は「健康づくりのための運動基準2006」を策定し運動を積極的に推奨した。しかしながら、結果的に運動の習慣化にはつながらず、逆に日常生活における1日の歩数は男女とも約1000歩減少した。このように、運動の効果を推奨するだけでは運動習慣者を増やすために十分と言えず、日常生活における「身体活動」を増やすことの重要性が強調されるようになった。そこで、「健康日本21」が第2次（2013年～）として再スタートする際には、「健康づくりのための身体活動基準」へと変更されている。

ここで、そもそも「身体活動（physical activity）」とは何か、「運動（exercise）」と何が違うのか、整理したい。「健康づくりのための身体活動基準」によると、「身体活動」とは、“安静にしている状態より多くのエネルギーを消費する全ての動き”のことであり、「生活活動」と「運動」に分けられると定義されている。生活活動には、日常生活における歩行から、家事、そして余暇活動など、日常生活の中で身体を動かす全ての活動が含まれる。これに対して「運動」は、健康増進や体力向上を目的として計画的・意図的に行われる身体活動（ジョギング、ヨガなど）のことを指している。

現代では、生活の機械化・IT化により我々の身体活動量は著しく減少し、驚くべきことに身体活動の推奨量を満たしていない不活動（physical inactivity）な人は

世界中で3人に1人にのぼると警鐘が鳴らされている<sup>14)</sup>。重要なのは、「運動不足」なのではなく、それ以前に「身体活動量」が足りていないということである。不活動は生活習慣病のリスクを高めるだけでなく、認知症やうつ病など精神疾患の危険因子でもある。つまり、「なぜ運動が認知症や精神疾患の予防に寄与するのか」という疑問に対する答えとして、「そ

もそも我々が不活動であるから」と言えるのではないだろうか。不活動が認知症の危険因子であることを知り、その危険因子を除去することが、認知症予防の基本戦略になると考えられる。

## 6. 身体活動・栄養と健康の関連性と今後の展望

我々の身体活動量（あるいは活動意欲）は、摂取する栄養素により無意識下で影響を受けている可能性がある。実際、実験動物を対象とした研究では、カロリー制限が身体活動量を高める一方、高脂肪食が身体活動量を減少させることが知られている。さらに興味深いことに、脂肪酸の種類によってもその影響は異なり、飽和脂肪酸よりも不飽和脂肪酸の方が身体活動量を減少させること、さらに不飽和脂肪酸の中でも一価不飽和脂肪酸（オリーブオイルなど）よりも多価不飽和脂肪酸（コーンオイルなど）の方が、身体活動量をより減少させることが報告されている<sup>15)</sup>。

これは筆者の印象であるが、これまでは「身体活動と栄養は、それぞれ独立して健康に影響する」という考え

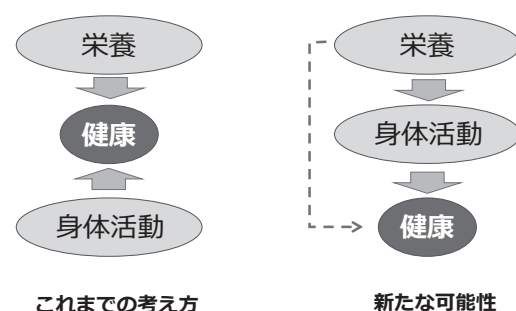


図4 身体活動および栄養と健康との関連性  
Figure 4 Relation between physical activity, diet, and health



方が主流であったと思われる。一方、上記のように身体活動量は栄養によって無意識下で影響を受けていることから、「栄養は、身体活動を介して健康に影響する」という新たな考え方が成立しないだろうか（図4）。もし、「活動意欲を高める栄養素」や「不活動を導く栄養素」を見出すことができれば、それは精神疾患や生活習慣病の新たな予防策の提案につながるだろう。現在はこのような視点から、栄養が身体活動に及ぼす影響や、さらにはその身体活動量の増減に伴う脳機能の変化に関して実験的検討はされていない。今後は、「運動をさせる・させない」、あるいは「栄養を摂取する・しない」といった従来の研究にとらわれず、柔軟な発想のもと、新たな研究アプローチが求められる。

## <参考文献>

- 1) Prince M et al. The global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. World Alzheimer report 2015, Alzheimer's Disease International, 2015.
- 2) Livingston et al. Dementia prevention, intervention, and care. The lancet, 390(10113), 2673-2734, 2017.
- 3) Stem Y. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. Lancet Neurol, 11(11), 1006-1012, 2012.
- 4) DeWeerd S. Prevention: Activity is the best medicine, Nature, 475(7355), S16-17, 2011.
- 5) Voss et al. Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. Trends Cogn Sci, 17(10): 525-544, 2013.
- 6) Choi SH et al. Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. Science, 361(6406), eaan8821, 2018.
- 7) Barnes JN. Exercise, cognitive function, and aging. Adv Physiol Educ, 39(2): 55-62, 2-15.
- 8) Ainslie PN et al. Elevation in cerebral blood flow velocity with aerobic fitness throughout healthy human ageing. J Physiol, 586(16): 4005-4010, 2008.
- 9) Li W et al. Early effects of high-fat diet on neurovascular function and focal ischemic brain injury. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 304(11), R1001-R1008, 2013.
- 10) Toth P et al. Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 312, H1-H20, 2017.
- 11) Toth P et al. Resveratrol treatment rescues neurovascular coupling in aged mice: role of improved cerebrovascular endothelial function and downregulation of NADPH oxidase. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 306(3), H299-308, 2014.
- 12) van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. Trends Neurosci. 32(5), 283-290, 2009.
- 13) Ristow M. Unraveling the Truth About Antioxidants: Mitohormesis explains ROS-induced health benefits. Nat Med. 20, 709-711, 2014.
- 14) Kohl HW et al., The pandemic of physical inactivity: global action for public health, Lancet, 380, 294-305, 2012.
- 15) Wong CK et al. A high-fat diet rich in corn oil reduces spontaneous locomotor activity and induces insulin resistance in mice. J Nutri Biochem, 26(4), 319-326, 2015.

## 略歴

西島 壮(にしじま たけし)

2001年 筑波大学体育専門学群 卒業

2006年 筑波大学大学院人間総合科学研究科体育科学専攻 修士(体育科学)取得

2006年 筑波大学大学院 研究員(COE)

2007年 カハール研究所、外国人若手研究員

2009年 首都大学東京大学院人間健康科学研究科 助教

2016年 同 准教授、現在に至る

# 生活習慣と腸内細菌叢

川崎医療福祉大学  
医療技術学部健康体育学科

矢野 博己



## 要 旨

宿主と腸内細菌叢との相互作用が、健康に、そして様々な疾患に関与することが報告されるようになった。ここでは、主な生活習慣病や疾患と腸内細菌叢との関連を解説し、生活習慣（運動・栄養・ストレス）と腸内細菌叢との接点を紐解くこととした。肥満症は *Firmicutes* と *Bacteroidetes* の比 (F/B ratio) で説明できるようである。2 型糖尿病と高血圧症も、腸管の炎症、および腸内細菌叢によって誘導される短鎖脂肪酸によって調節されていると説明することができるのかもしれない。また、トリメチルアミン (TMA) を産生する腸内細菌叢が、動脈硬化性心血管疾患に関与しているようである。腸内細菌叢がいくつかの癌や精神障害に与える影響についても同じことが言える。生活習慣（運動、栄養、ストレスなど）と腸内細菌叢との関係がますます明らかになってきている。

\* \* \* \* \*

## <Summary>

It has been reported that interactions between host and gut microbiota can strongly influence human health and various diseases. Here, this review aims to summarize the relationship between the several diseases, including lifestyle diseases, and the gut microbiota, and then discuss the point of contact between lifestyle (exercise, nutrition and stress) and gut microbiota. The ratio of *Firmicutes* to *Bacteroidetes* (F/B ratio) might be associated with obesity. Both type 2 diabetes and hypertension may be shown to be regulated by the inflammation of the intestinal tract and gut microbiota-induced short chain fatty acids. Also, it seems that trimethylamine (TMA)-producing microbiota are involved in arteriosclerotic cardiovascular disease. The same might be true for the influence of gut microbiota on several cancers and psychiatric disorders. Relationships between lifestyle (such as exercise, nutrition, stress) and gut microbiota are becoming clear more and more.

## 1. はじめに

お食事前後の方にはご容赦願いたい。腸内細菌叢を入れ替えるという荒療治（?）、いわゆる糞便移植（fecal microbiota transplantation : FMT）の歴史は古く、実に4世紀の中国にさかのぼる<sup>1)</sup>。この“yellow soup（黄色いスープ）”は、重度の食中毒や下痢の際に処方されたようである<sup>1)</sup>。そして時を経ること1,700年、21世紀の現代において、驚嘆すべきFMT研究成果が高い評価を受け続ける臨床医学雑誌*New England Journal of Medicine*に報告された<sup>2)</sup>。すなわち、抗生剤治療による効果の見られなかった腸炎患者の腸管に、健康者の糞便を移植することで、数日間の下痢等の症状は見られたものの、その後、顕著な治療効果が得られたとのことであった。さらに、米国ボストンのマサチューセッツ総合病院では、カプセル化した凍結糞便の経口摂取による治療効果の検討が始まっている<sup>3)</sup>。「毒をもって毒を制す」時代の幕開け、難治性腸疾患治療のブレイクスルーとしてのFMTは、今後も話題を呼ぶ医療イノベーションとなりうるのだろうか。本邦でもすでにFMTによる治療効果が報告されている<sup>4)</sup>。

このように、プロバイオティクスやプレバイオティクスとは桁違いの数の腸内細菌を入れ替えるという臨床の現場が現実化する一方で、炎症性腸疾患や過敏性腸症候群の治療に止まらず、腸内細菌叢はあらゆる疾患と関連しているとの報告が、近年、多数なされるようになってきた（図1）<sup>5)</sup>。同時に、エビデンスの蓄積、さらにはメカニズム解明に挑む基礎研究・応用研究の研究者が群

雄割拠し、まさにしのぎを削る時代と言えるのかもしれない。本稿では、主な生活習慣病や疾患と腸内細菌叢との関連を解説した上で、生活習慣（運動・栄養・ストレス）と腸内細菌叢との接点を紐解く。

## 2. 生活習慣病と腸内細菌叢 I ——代謝性疾患（肥満症・糖尿病）——

代謝性疾患を誘発する要因の一つとして腸内細菌叢の変化が挙げられるという説は、多くの研究成果と共に支持されるようになった。Gordon ら（2005）<sup>6)</sup>の研究チームは、肥満の人はやせ型の人に比べて phylum（門）のレベルで腸内細菌叢に違いがあるとして、肥満症では *Firmicutes* と *Bacteroidetes* の比（F/B ratio）が高くなっていることを報告した。Armougom ら（2009）<sup>7)</sup>も、肥満者（BMI= 47.09）では、健康者（BMI= 20.68）や拒食症患者（BMI= 12.73）と比較して *Bacteroidetes* が明らかに少ないことを報告し、逆に高い割合で大量の *Lactobacillus*（*Firmicutes* 門）を有していることを示している。また、世の中には、普通の人と同じくらいの食事量であっても、肥満体型で悩む人が多いが、Vijay-Kumar ら（2010）<sup>8)</sup>は、太りやすい体質は、腸内細菌叢の異常による可能性があるとして *Science* 誌に報告した。彼らは、免疫を活性化する Toll 様受容体 5（toll-like receptor 5 : TLR5）の遺伝子欠損マウスでは、通常食であっても肥満症を発症し、それは腸内細菌叢の変化に由来するとしている。この遺伝変異マウスは、肥満症に加え、糖尿病や脂質異常症、脂肪肝といったメタボリックシンドローム様の症状を呈する。加えて、正常マウスにこのマウスの糞便を移植すると、同様のメタボリックシンドロームが発症してしまうという。Blaser（2012）<sup>9)</sup>の研究グループもまた、抗生剤を用いた実験から、体脂肪の蓄積と腸内細菌叢とが関係していることを示している。

肥満症では、腸管のタイトジャンクションが緩くなり、血中の内毒素（エンドトキシン）濃度が上昇し、慢性低炎症が引き起こされる。高脂肪食によって腸内細菌叢の変化が誘導され、腸管のバリア機能は低下し、エンドトキシンの主成分であるリポ多糖体（lipopolysaccharide : LPS）の血液中への流入が増大するからである（図2）。高脂肪食は、胆汁の分泌を刺激

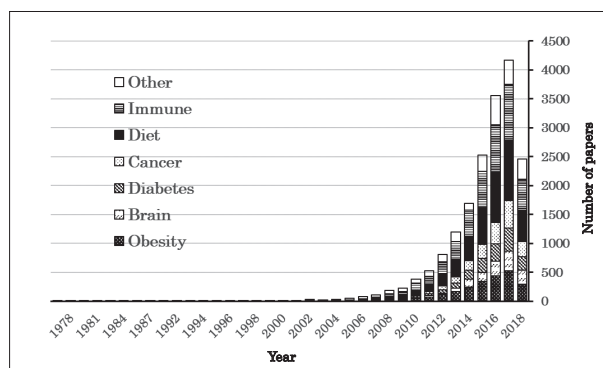


図1 発行された「腸内細菌叢」の研究論文数  
PubMed 検索結果を年ごとに表示

Figure 1 Number of 'gut microbiota' research papers published  
From PubMed search results by year

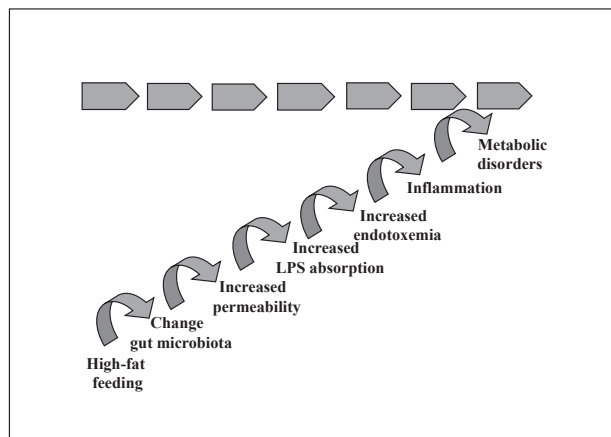


図2 腸内細菌由来の慢性低炎症および代謝性疾患の発症機序<sup>10)</sup>

過剰な高脂肪摂取は腸内細菌叢の変化を誘導し、腸管上皮の透過性亢進が生じる。結果として、循環血中へのエンドキシン流入が慢性低炎症による代謝性疾患を引き起こす。

Figure 2 A hypothesis for bacteria-induced inflammation and metabolic disorders<sup>10)</sup>

On excessive high-fat feeding, change in gut microbiota is associated with an increased intestinal epithelial permeability. As the result, high endotoxemia-induced low-grade chronic inflammation triggers metabolic disorders.

するため、大量の胆汁酸がある種の腸内細菌を排除し、腸内環境の変化が生じると考えられる<sup>10)</sup>。

外科的に皮下脂肪組織や腹腔内脂肪組織を除去し肥満を解消しても、インスリン感受性は改善されない<sup>11, 12)</sup>。Aydin ら (2018)<sup>13)</sup> は、肥満とインスリン抵抗性とは共通の要因がそれぞれ別々に影響をおよぼしているという視点から、腸内細菌叢に注目が向けられてきたと指摘する。2型糖尿病患者の腸内細菌叢には特徴があること<sup>14)</sup>、さらには健常者の糞便をメタボリックシンドローム患者に移植すると、インスリン抵抗性が改善することが報告された<sup>13)</sup>。2型糖尿病患者ではLPSの血液中への流入が生じ<sup>14)</sup>、慢性低炎症が誘導され、脂肪組織や骨格筋のインスリン抵抗性が惹起される。逆に、腸内細菌由来の短鎖脂肪酸（酢酸、酪酸、およびプロピオン酸）によっては、腸管内分泌細胞（enteroendocrine cell）上の G-protein-coupled receptor (GPR)41、GPR43 を介した、膵β細胞インスリン分泌を促進する消化ホルモン glucagon like peptide 1(GLP-1)の分泌促進を生じさせる<sup>13)</sup>。さらに、GPR43を発現している骨格筋や肝のインスリン感受性を亢進させる<sup>16)</sup>。まさに、腸内細菌叢が宿主の短鎖脂肪酸受容体を介して、巧みにインスリン抵抗性を制御しているようでもある。

### 3. 生活習慣病と腸内細菌叢Ⅱ——循環器系疾患（高血圧・動脈硬化・心臓病）——

腸内細菌叢はまた、循環器系疾患に対しても様々な影響をおよぼしていることが知られるようになった。その一つが、血圧調節系への腸内細菌叢の関与である。腸内細菌の発酵作用の結果産み出される代謝産物の代表として、宿主にとって有益とも考えられるのが前項でも取り上げた短鎖脂肪酸である。腸内細菌の生態系は非常に多様な細菌の集合体（叢）であり、相互に代謝産物をやりとりしているが、最終産物となった短鎖脂肪酸は、宿主のエネルギー基質となる一方で、受容体を介して生理活性物質として作用する<sup>17)</sup>。中でも GPR41、GPR43、および olfactory receptor (Olf) 78 を含む短鎖脂肪酸受容体への刺激は、血圧をも調節するとされる<sup>18)</sup>。腸内細菌によって産生された短鎖脂肪酸は Olf78 を介して、求心性細動脈からのレニン放出によって引き起こされる血圧上昇を誘導する。逆に GPR43 は、血管拡張に作用することで血圧上昇を抑制する。自然発症高血圧ラットやアンジオテンシンⅡ誘導性高血圧ラット、あるいはサンプルサイズの小さい報告ではあるが、高血圧症患者では、腸内細菌叢の多様性が低く、F/B ratio が高くなることが報告されている<sup>19)</sup>。さらに、テトラサイクリン系の抗生剤投与で腸内細菌叢の変化を誘導すると、血圧改善効果も同時に観察される。このように、腸内細菌叢は、血圧を制御する機能に深く関与していると考えられ、それらの機能不全は、高血圧症をまねくものと思われる。Khalesi ら (2014)<sup>20)</sup> は、システマティックレビューの結果、プロバイオティクスが高血圧症患者に有効であったとしている。

もう一つの循環器系疾患としては、動脈硬化性心疾患と腸内細菌叢との関係があげられる。Wang ら<sup>21)</sup> は、2011年にメタボローム解析を駆使し、*Nature* 誌に以下の報告をしている。すなわち、コリンを含む食品摂取から、腸内細菌によってトリメチルアミン (trimethylamine : TMA) が生成され、動脈硬化の原因物質であるトリメチルアミン N-オキシド (trimethylamine N-oxide : TMAO) が血液中で増加し、心疾患のリスクを上げていると指摘したのである。さらに、その2年後、心臓のミトコンドリア保護作用を有するとして我々がこれまで報告してきた L-カルニチン<sup>22, 23)</sup> もまた、腸内細菌によって TMA に代謝され、結果的に動脈硬化性心疾患のリス



クファクターとなりうるとの研究成果が *Nature Medicine* に掲載された<sup>24)</sup>。一方で、*Akkermansia muciniphila* は、免疫系を制御することで、高脂肪・高コレステロール食餌によって誘導されたアテローム性動脈硬化を予防できるとするなど、動脈硬化を抑制する腸内細菌も報告されている<sup>25)</sup>。このように腸内に常在する細菌は、宿主の循環器系をも制御する重要な共生者 (symbionts) であると理解できる<sup>26)</sup>。

#### 4. 癌と腸内細菌叢

炎症性サイトカインを介した nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) シグナル、あるいは mitogen-activated protein kinase (MAPK)-extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 シグナルや phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)-Akt シグナル、さらには Wnt シグナル/ $\beta$ -カテニン経路などを介して、癌の発症と進行が生じる。癌と腸内細菌との関係が指摘されているのは、*Helicobacter pylori*、および口腔内細菌でもある *Peptostreptococcus stomatis*、*Parvimonas micra*、*Fusobacterium nuclea* と胃癌、あるいは *P. anaerobius*、*F. nucleatum*、毒素原性 *Bacteroides fragilis*、遺伝毒性 *Escherichia coli* と大腸癌、また、*H. hepaticus* と肝癌や、*Porphyromonas gingivalis* と肺癌などである<sup>27)</sup>。腸内細菌の破綻が原因なのか、あるいは癌発症の結果なのかについては、解明を待つ段階ではあるが、たとえ原因ではなかったとしても、関係性が明らかとなれば次なるイノベーションの発展が期待できる。一例として、C 型肝炎ウイルス (HCV) の持続感染が腸内細菌叢を変化させ、病状の悪化と腸内細菌叢の破綻が同時に進行している可能性が報告された<sup>28)</sup>。腸内細菌叢の変化を癌のバイオマーカーとして利用できる可能性、あるいは創薬へと発展する期待が持てる。

#### 5. 中枢神経疾患と腸内細菌叢

前述の Gordon ら<sup>6)</sup>の研究チーム同様、アイルランドの Cryan たち<sup>29)</sup>の研究チームからの報告も非常に興味深い。彼らは、性格や心の状態に影響を与える要因として、腸内細菌叢を挙げ、「サイコバイオティクス (psychobiotics)」と呼ぶようになった。「腸内細菌が腸

神経を刺激することで、その信号が求心性の迷走神経を経て (血液脳関門の壁を越える必要もなく)、中枢神経へと伝えられる。」との学説である。自閉症や注意欠陥・多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder : ADHD) など、心や精神あるいは脳の病とされてきた病気と腸内細菌叢との関連性が次々と報告されるようになり、我々の行動に影響を及ぼしている可能性は高い。Lactobacillus 摂取は、脳内の  $\gamma$ -アミノ酪酸 (gamma amino butyric acid : GABA) 受容体の発現をコントロールすることで迷走神経活動を介した不安性行動 (emotional behavior) を抑制するとしている<sup>30)</sup>。また、自閉症スペクトラム障害 (autism spectrum disorder : ASD) モデルマウスを用いた研究では、*B. fragilis* 摂取で、腸内細菌叢の変化とともに ASD 行動異常の改善が見られたとする報告が雑誌 *Cell* に掲載された<sup>31)</sup>。動物実験に加えて、最近の 20 年間の ASD 患者の腸内細菌叢、あるいは粘膜細菌叢に関する研究から、その発症や病状の悪化に、腸内細菌叢が関連するとの指摘もされており<sup>32)</sup>、今後ますます脳-腸-腸内細菌叢相関 (brain-gut-microbiota axis: BGM axis) 研究<sup>33)</sup>の発展が大いに期待される。

#### 6. 生活習慣——運動・栄養・ストレス——

腸内細菌叢と様々な疾患との関係が明らかになる中で、腸内細菌叢に影響を与える要因を具体的に挙げるとすれば、①遺伝的要因、②加齢の影響、③抗生剤の服用、④妊娠の影響、⑤分娩方法に加えて、生活習慣とかわってくる⑥運動、⑦栄養、そして⑧ストレスが指摘

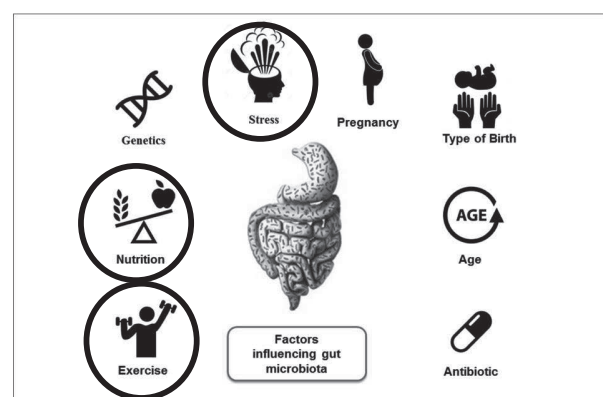


図3 腸内細菌叢に影響を及ぼす主な因子<sup>34)</sup>

Figure 3 Factors influencing gut microbiota<sup>34)</sup>

されている (図 3)<sup>34)</sup>。

日常生活において、身体活動や運動習慣の重要性について異論を挟む人は少ないと思われる (やるやらないは、別の問題があるとしても)。運動は、エネルギー消費量の増大、基礎代謝の亢進による内臓蓄積脂肪の減少とともに、高脂血・高血糖・高血圧など、種々のメタボリックシンドロームの発症予防・改善効果をもたらすことは、多くの研究成果とともに、周知の事実であるからである<sup>35)</sup>。また、大腸癌の予防に対する運動の効果も知られるようになった<sup>36, 37)</sup>。しかし、運動を取り入れた生活習慣そのものが、はたして腸内細菌叢に影響を及ぼしているのかについては、未だ解明されていない部分も多い。

Costa ら (2017)<sup>38)</sup> のメタ解析の結果、高強度運動や長時間運動は、腸の損傷や腸内細菌の菌体あるいはエンドトキシンなどの循環血中への流入 (bacterial translocation)、蠕動運動の鈍化のリスクを高めるとしており、運動誘発性胃腸症候群 (exercise-induced gastrointestinal syndrome) と呼ばれる。運動によるストレスは、物理的ストレスに加えて、腸管でのホルモン (GABA、NPY、ドーパミンやセロトニンなど)、あるいは炎症性サイトカインや腸内細菌由来の短鎖脂肪酸産生などに影響をおよぼし、腸管障害を引き起こし、結果としてアスリートのパフォーマンス低下をもたらすことになると考えられている<sup>39)</sup>。

2008 年、Matsumoto ら<sup>40)</sup> は、動物実験から、運動による短鎖脂肪酸を含む糞便中有機酸と腸内細菌叢の変化を報告した。これ以降、腸内細菌叢と運動の研究が進化、そして加速し始めている<sup>34, 41)</sup>。我々は運動が腸内細菌叢に影響をおよぼす機構を示唆する報告を行っている<sup>42)</sup>。自然免疫の中心的役割を果たす TLRs ファミリーに属する TLR5 (前述) は、細菌の鞭毛を形成するタンパク質フラゲリンを認識するが、免疫担当細胞以外にも腸管上皮細胞に強く発現している<sup>43)</sup>。TLR5 が感染時の身体活動性に深く関与し<sup>44)</sup>、また高強度運動負荷によって腸管上皮細胞での発現が増強する (図 4)<sup>42)</sup>。TLRs ファミリーは細菌・ウイルス関連分子を認識することから自然免疫にとって重要な働きをされると考えられるが、その中で唯一 TLR5 のみが運動負荷で発現亢進にともなった免疫機能の賦活化を生じる<sup>45)</sup>。運動時の腸管からの初期感染防御にとって非常に重要な受容体と考えられ、特に鞭毛を有する腸内細菌叢の構成に強く影響をおよぼし

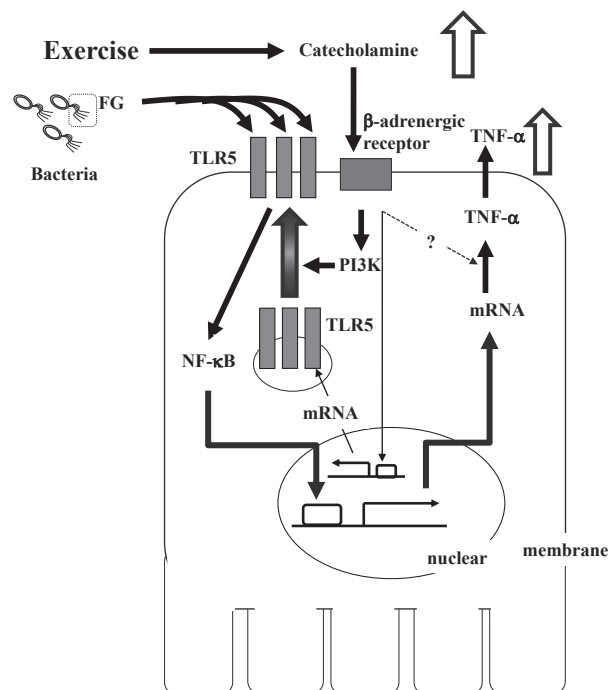


図 4 TLR5 を介した FG シグナル伝達経路における TNF-α 産生に対する急性運動の影響<sup>42)</sup>

Figure 4 Schematic depiction of the effects of exhaustive exercise on the TNF-α production in the FG signaling pathway via TLR5 upregulation<sup>42)</sup>

ている可能性は容易に想定できる。一方で、運動時に筋肉から放出される IL-6 などのマイオカインが腸内細菌叢に影響を与える可能性があるのかどうかなどについては全く不明とされている<sup>34)</sup>。

運動と同様か、またはそれ以上に栄養 (食習慣やサプリメント摂取) の重要性は、多くの人が認識するところである。腸内細菌叢は、食事の変化に迅速に反応することができ、潜在的にヒトの食生活の多様性を受け入れる寛容さを有しているとされる<sup>46)</sup>。糖質、タンパク質、脂質、抗酸化食品、そして食物繊維などのプレバイオティクス、発酵食品摂取によるプロバイオティクスは、いずれもダイレクトに腸内細菌叢に影響をおよぼす<sup>47)</sup>。糖質、特に宿主には分解不可能な多糖体は、腸内細菌叢の重要なエネルギー源であり、その副産物である有機酸、中でも短鎖脂肪酸は宿主にとっても貴重なエネルギー源であり、なおかつ生理活性物質となりうる (前述)。一方で、タンパク質は腐敗発酵の材料となり、アンモニアや硫化水素、アミンやフェノール、チオールやインドールが産生され、細胞毒性、遺伝子毒性、あるいは発癌性の要因となりうる<sup>47)</sup>。赤身の肉に多く含まれる L- カルニチンやコリンを多く含む食品もまた、腸内細菌によっては動

脈硬化性心疾患のリスクファクターとなりうる（前述）。さらに、高脂肪食によっては腸管の透過性が亢進し、グラム陰性菌由来のLPSが血液中へ流入しやすくなる。加えて、胆汁酸の分泌促進をも促すため、腸内細菌叢の7- $\alpha$ -dehydroxylation 活性（マルチステップ反応）を経て二次胆汁酸が産生され、これは大腸癌や腸疾患の要因と関係してくる<sup>47)</sup>。

ストレスと腸内細菌叢との関係については、脳—腸相関を軸に、抗生剤、FMT、germ-free 無菌マウスなどの実験モデルを用いて、行動観察実験（不安様行動、うつ様行動、痛覚反応、ストレス回避反応、味覚異常など）とともに報告されるようになった<sup>48)</sup>。腸内細菌叢は、感情的行動、ストレスおよび疼痛調節システム、脳神経伝達物質システムの発達に影響を与えられている。無菌マウスは、血液脳関門の透過性が高く<sup>49)</sup>、ストレスに対して、ストレスホルモン（ACTH や glucocorticoid）が敏感に反応する<sup>50)</sup>。しかし、酪酸産生菌や酢酸・プロピオン酸産生菌移植で血液脳関門機能が回復する<sup>49)</sup>。ヒトでの報告は、十分ではなく、今後に期待するところではあるが、Steenbergen ら（2015）<sup>51)</sup>は、4週間のプロバイオティクス介入によって、抑うつ感受性尺度（Leiden index of depression sensitivity-revised: LEIDS-r）に効果が見られたとしており、ネガティブ思考の改善を示唆しているのかもしれない。

## 7. おわりに

黄金を排泄する細菌、*Cupriavidus metallidurans*（キュープリアビダス）の発見<sup>52)</sup>から約10年、最近その謎解きがまた一歩進歩したらしい<sup>53)</sup>。我々ヒトとともに歩む腸内細菌叢のさらなる研究も、21世紀の原点回帰、「臭いものには蓋、を開けたら黄金の宝箱だった」となるのであろうか。すでに腸内細菌叢は、生体を制御する重要な臓器、器官の一つであると理解すべきである。はたして、この八百万の微生物たちは、私たちに何を語りかけているのであろうか。脳—腸—腸内細菌叢の奏でる jam session “BGM” をぜひ聴きたいものである。

## <謝辞>

本研究は、川崎医療福祉大学 学内研究助成 平成30年度 医療福祉研究費、および JSPS 科研費〔基盤研究 (B) 15H03102〕の助成を受けたものである。

## <利益相反>

開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

## <参考文献>

- 1) de Groot PF *et al.*, Fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: history, present and future. *Gut Microbes*, 8, 253-67 (2017)
- 2) van Nood E *et al.*, Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*, 368, 407-15 (2013)
- 3) Youngster I *et al.*, Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA*, 312, 1772-8 (2014)
- 4) Ishikawa D *et al.*, Changes in intestinal microbiota following combination therapy with fecal microbial transplantation and antibiotics for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 23, 116-25 (2017)
- 5) Blaser MJ, Missing microbes: how killing bacteria creates modern plagues. Henry Holt and Company, New York, NY, pp.273 (2014)
- 6) Ley RE *et al.*, Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 11070-5 (2005)
- 7) Armougom F *et al.*, Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and *Methanogens* in anorexic patients. *PLoS One*, 4, e7125 (2009)
- 8) Vijay-Kumar M *et al.*, Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*, 328, 228-31 (2010)
- 9) Cho I *et al.*, Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 488, 621-6 (2012)

- 10) Cani PD *et al.*, Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 57, 1470-81 (2008)
- 11) Klein S *et al.*, Absence of an effect of liposuction on insulin action and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med*, 350, 2549-57 (2004)
- 12) Fabbrini E *et al.*, Surgical removal of omental fat does not improve insulin sensitivity and cardiovascular risk factors in obese adults. *Gastroenterology*, 139, 448-55 (2010)
- 13) Aydin Ö *et al.*, The gut microbiome as a target for the treatment of type 2 diabetes. *Curr Diab Rep*, 18, 55 (2018)
- 14) Qin J *et al.*, A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490, 55-60 (2012)
- 15) Vrieze A *et al.*, Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143, 913-6 (2012)
- 16) Kimura I *et al.*, The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*, 4, 1829 (2013)
- 17) Koh A *et al.*, From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 165, 1332-45 (2016)
- 18) Jose PA and Raj D, Gut microbiota in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 24, 403-9 (2015)
- 19) Yang T *et al.*, Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension*, 65, 1331-40 (2015)
- 20) Kalesi S *et al.*, Effect of probiotics on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension*, 64, 897-903 (2014)
- 21) Wang Z *et al.*, Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472, 57-63 (2011)
- 22) Oyanagi E *et al.*, Protective action of L-carnitine on cardiac mitochondrial function and structure against fatty acid stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 412, 61-7 (2011)
- 23) Oyanagi E *et al.*, Palmitoleic acid induces the cardiac mitochondrial membrane permeability transition despite the presence of L-carnitine. *Biochem Biophys Res Commun*, 463, 29-36 (2015)
- 24) Koeth RA *et al.*, Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 19, 576-85 (2013)
- 25) Li J *et al.*, *Akkermansia muciniphila* protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in *Apoe*<sup>-/-</sup> mice. *Circulation*, 133, 2434-46 (2016)
- 26) Fabbiano S *et al.*, Host-microbiota mutualism in metabolic diseases. *Front Endocrinol*, 8, 267 (2017)
- 27) Wong SH *et al.*, Clinical applications of gut microbiota in cancer biology. *Semin Cancer Biol*, S1044-579X, 30026-9 (2018)
- 28) Inoue T *et al.*, Gut dysbiosis associated with Hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*, 67, 869-77 (2018)
- 29) Cryan JF *et al.*, Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 13, 701-12 (2012)
- 30) Bravo JA *et al.*, Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108, 16050-5 (2011)
- 31) Hsiao EY *et al.*, Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155, 1451-63 (2013)
- 32) 渡邊邦友, 自閉症と腸内細菌. 腸内細菌学雑誌, 28, 121-8 (2014)
- 33) Dinan TG and Cryan JF, Brain-gut-microbiota axis and mental health. *Psychosom Med*, 79, 920-6 (2017)
- 34) Cerdá B *et al.*, Gut microbiota modification: another piece in the puzzle of the benefits of physical exercise in health? *Front Physiol*, 7, 51 (2016)
- 35) Pitsavos C *et al.*, Diet, exercise and the metabolic syndrome. *Rev Diabet Stud*, 3, 118-26 (2006)
- 36) Huxley RR *et al.*, The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: a



- quantitative overview of the epidemiological evidence. *Int J Cancer*, 125, 171-80 (2009)
- 37) Wolin KY *et al.*, Physical activity and risk of colon adenoma: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 104, 882-5 (2011)
- 38) Costa RJS *et al.*, Systematic review: exercise-induced gastrointestinal syndrome-implications for health and intestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 46, 246-65 (2017)
- 39) Clark A *et al.*, Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. *J Int Soc Sport Nutr*, 13, 43 (2016)
- 40) Matsumoto M *et al.*, Voluntary running exercise alters microbiota composition and increase n-butyrate concentration in the rat cecum. *Biosci Biotechnol Biochem*, 72, 572-6 (2008)
- 41) 矢野博己 他, 運動と腸管免疫機能 (腸内細菌) とのかかわり. *体育の科学*, 68, 32-7 (2018)
- 42) Uchida M *et al.*, Exhaustive exercise increases the TNF- $\alpha$  production in response to flagellin via the upregulation of toll-like receptor 5 in the large intestine in mice. *Immun Lett*, 158, 151-8 (2014)
- 43) Akira S *et al.*, Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124, 783-801 (2006)
- 44) Matsumoto T *et al.*, Salmonella administration induces a reduction of wheel-running activity via a TLR5-, but not a TLR4-, dependent pathway in mice. *Exerc Immunol Rev*, 14, 38-50 (2008)
- 45) Yano H *et al.*, The suppression of tumor necrosis factor- $\alpha$  production in response to pathogen stimulation by strenuous exercise and the underlying mechanisms. *J Physical Fitness Sports Med*, 1, 645-53 (2012)
- 46) David LA *et al.*, Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505, 559-63 (2014)
- 47) Conlon MA and Bird AR, The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*, 7, 17-44 (2014)
- 48) Mayer EA *et al.*, Gut/brain axis and the microbiota. *J Clin Invest*, 125, 926-38 (2015)
- 49) Braniste V *et al.*, The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*, 6, 263ra158 (2014)
- 50) Sudo N *et al.*, Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 558, 263-75 (2004)
- 51) Steenbergen L *et al.*, A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain Behav Immun*, 48, 258-64 (2015)
- 52) Reith F *et al.*, Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106, 17757-62 (2009)
- 53) Bütof L *et al.*, Synergistic gold-copper detoxification at the core of gold biomineralisation in *Cupriavidus metallidurans*. *Metallomics*, 10, 278-86 (2018)

## 略歴

矢野 博己(やの ひろみ) 博士(医学)

- 1988 年 東京学芸大学 教育学部 卒業
- 1991 年 東京学芸大学大学院 教育学研究科 修士課程修了
- 1992 年 川崎医療福祉大学 医療技術学部 健康体育学科 助手
- 1997 年 川崎医療福祉大学 医療技術学部 健康体育学科 講師
- 2001 年 倉敷成人病センター 医科学研究所 客員研究員
- 2002 年 米国イリノイ大学アーバナ・シャンペーン校 客員研究員
- 2007 年 川崎医療福祉大学 医療技術学部 健康体育学科 准教授
- 2007 年 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞組織学 客員研究員
- 2015 年 川崎医療福祉大学 医療技術学部 健康体育学科 教授 現在に至る

所属学会：日本体力医学会 (評議員), 日本運動免疫学研究会 (会長), 他

# 異所性脂肪とインスリン抵抗性

順天堂大学大学院医学研究科 代謝内分泌内科学・スポーツロジセンター  
順天堂大学国際教養学部 グローバルヘルスサービス領域

田村 好史



## 要 旨

インスリン抵抗性はメタボリックシンドロームや2型糖尿病の病態生理として重要な役割を担っている。最近のデータは、骨格筋や肝臓における異所性脂肪の蓄積が肥満とは独立してインスリン抵抗性を惹起していることを示唆している。例えば、3日間の高脂肪食は骨格筋細胞内脂質を増加させ、インスリン感受性を低下させた。その一方で、2型糖尿病における2週間の運動療法は骨格筋細胞内脂質を減少させ、インスリン感受性を増加させた。興味深いことに、長距離ランナーでもインスリン感受性が高いのにもかかわらず骨格筋細胞内脂質が蓄積している。この現象をアスリートパラドックスと言う。我々はこの現象に骨格筋における脂肪酸トランスポーターが関連していることを見出した。最後に、脂肪肝と骨格筋インスリン抵抗性の関連について言及した。

\*\*\*\*\*

## <Summary>

Insulin resistance plays an important role in the pathogenesis of metabolic syndrome and type 2 diabetes. Recent data suggest that ectopic fat accumulation in muscle and liver induces insulin resistance in these organs, independent of obesity. For example, 3 days high fat diet increased intramyocellular lipid (IMCL) level and impaired insulin sensitivity. In contrast, 2 weeks exercise therapy decreased IMCL and improved insulin sensitivity in type 2 diabetes. Interestingly, IMCL level in endurance runners is elevated despite their insulin sensitivity is high. This phenomenon is so called “athlete paradox”. We found that difference in fatty acid transporter in skeletal muscle is associated with this phenomenon. Finally, I addressed the association between fatty liver and insulin resistance in muscle.

Ectopic Fat and Insulin Resistance

YOSHIFUMI TAMURA  
Department of Metabolism and Endocrinology,  
Sportology Center  
Graduate School of Medicine, Juntendo University  
Department of Global Health Service  
Juntendo University Faculty of International Liberal Arts

## 1. 異所性脂肪とインスリン抵抗性

2型糖尿病やメタボリックシンドロームの発症にインスリン抵抗性は重要な役割を担っているが、歴史的に肥満者がインスリン抵抗性を惹起するメカニズムとして遊離脂肪酸 (free fatty acid; FFA) の重要性が指摘されている<sup>1)</sup>。肥満者では FFA の血中濃度が高く、実際に、健康人の血中 FFA 濃度を脂肪乳剤とヘパリンを用いて人為的に高めると、骨格筋のインスリン抵抗性<sup>2-4)</sup>や肝インスリン抵抗性<sup>5)</sup>が短時間で惹起されることが知られている。約 10 年前にヒトにおいて proton magnetic resonance spectroscopy (<sup>1</sup>H-MRS) 法で細胞内の脂質量 (異所性脂肪) が測定可能になり、最初に骨格細胞内脂質 (intramyocellular lipid; IMCL、脂肪筋) とインスリン感受性の関連性が横断研究で検証された<sup>6-8)</sup>。いずれの研究においても、IMCL が蓄積しているとインスリン感受性が低下している関連性を認めた。血中 FFA が肝臓や骨格筋における異所性脂肪蓄積の重要な基質となり、インスリン抵抗性を惹起することが明らかとなってきた<sup>3,9)</sup>。例えば、FFA を人為的に 6 時間高めることにより、ヒラメ筋や前脛骨筋の IMCL がそれぞれ 121 %、164 % も増加し、それに伴ってインスリン感受性が低下することが示されている<sup>3)</sup>。

その一方で、アジア人においては、非肥満者においても代謝異常をきたし易いことが知られている<sup>10-12)</sup>。そのため、WHO はアジア人における過体重は BMI で 23kg/m<sup>2</sup> 以上、肥満は 25kg/m<sup>2</sup> 以上とすることを示唆している<sup>13)</sup>。アジア人でなぜ非肥満者においても代謝障害が出やすいのかは、完全には解明されていないが、異所性脂肪の溜まりやすさとそれに伴うインスリン抵抗性の生じやすさが影響している可能性がある。そこで、本総説ではそれらに関する議論を中心にまとめる。

## 2. IMCL の計測法

IMCL は、現在 <sup>1</sup>H-MRS 法により計測が可能である。骨格筋には IMCL とともに骨格筋細胞外脂質 (extramyocellular lipid; EMCL) が存在する。EMCL はいわゆる霜降り肉の霜の部分であり、これは脂肪組織で構成されている。<sup>1</sup>H-MRS はこの IMCL と EMCL を分けて計測することが可能である<sup>14)</sup>。本法のメリットは、

過去に行われてきた生検と違い、非侵襲的であると同時に、比較的大きい範囲で (例えば 1~2cm<sup>3</sup>) の IMCL の計測が可能であることである。これらを用いた研究などにより、EMCL でなく、IMCL の蓄積がインスリン抵抗性の直接的な原因となっていることが示唆されてきた。また、同様の手法を用いることにより、肝細胞内脂質 (intrahepatic lipid; IHL) の定量も可能である。

## 3. IMCL を規定する因子——ミトコンドリア活性

IMCL の量は、主に骨格筋細胞内への脂質の取り込みと消費の差によって規定される。よって、ミトコンドリア活性に問題があると、IMCL が蓄積しインスリン抵抗性が発生する可能性がある。実際に、高齢者とインスリン抵抗性を持つ糖尿病の家族歴を持った人とはミトコンドリア活性がそれぞれ 40 %、並びに 30 % 低下しており、それと関連して IMCL の蓄積やインスリン感受性の低下を認めていた<sup>15,16)</sup>。これらの事から、ミトコンドリア活性の低下は IMCL の蓄積とインスリン抵抗性に関与する可能性が示唆される。

## 4. IMCL を規定する因子—身体活動、高脂肪食

我々の検討などから、生活習慣が直接異所性脂肪を変化させ、代謝に影響を与える可能性が明らかとなってきた。例えば、2型糖尿病における食事、運動療法の細胞内脂質蓄積に対する意義について検討した。2週間の糖尿病教育入院となった2型糖尿病患者14名を食事療法単独または、食事+運動療法により加療を行う2群に分け、入院前後に<sup>1</sup>H-MRSによりIMCL、IHLを定量評価し、同時に高インスリン正常血糖クランプに経口糖負荷を組み合わせ、末梢インスリン感受性、肝糖取り込み率を測定した<sup>17)</sup>。IHLは、両群ともにほぼ同等に約30%減少し、それに伴って肝糖取り込みは増加した。骨格筋に関しては、食事療法単独ではIMCLと末梢インスリン感受性は有意に変化しなかったが、食事+運動療法群ではIMCLが19%減少し、末梢インスリン感受性は57%増加した(図1)。IMCLの変化率は、メモリー

付加速度計で測定した身体活動度の変化率は負の相関を認め、IMCL 減少は運動により細胞内脂質が消費された結果であることが推察された。これらのことから、2 型糖尿病における食事療法は主に肝臓の、運動療法は主に骨格筋における細胞内脂質を減少させ、インスリン抵抗性を改善させることが考えられた。次に、13 名の肥満症男性に対する食事療法による介入調査も同様に行なった<sup>18)</sup>が結果は同様であった。つまり、食事療法によるエネルギー制限は体重減少が僅かであっても肝臓内の細胞内脂質を大幅に減少すると同時に、肝糖取り込みを改善することが示唆された。また、2 型糖尿病において、運動療法は主に骨格筋の細胞内脂質を減少し、骨格筋のインスリン抵抗性を改善することが示唆された。これらのことから、骨格筋、肝臓への異所性脂肪蓄積は生活習慣に直接影響を受け、肥満とは独立してインスリン抵抗性を規定している可能性が考えられた。

その一方で、IMCL は高脂肪食によっても蓄積される<sup>3, 19-21)</sup>。我々の検討では、3 日間の高脂肪食により、長距離ランナーでは IMCL が増加したが、短距離ランナーではそのような変化を認めなかった。また、Bachman らは、3 日間の高脂肪食が IMCL を増加させインスリン感受性を低下させたことを明らかにしたが、その変化には大きな個人差があることが明らかとなった<sup>3)</sup>。これに関連して、我が国では食事の高脂肪食化が進んでおり、それが IMCL 増加やインスリン感受性低下を生じさせ、代謝血管障害のリスクの一つになっている可能性がある。しかし、高脂肪食によりすべての人が代謝血管障害になるわけではなく、生活習慣と疾患発症の間には個人間の感受性の差が影響することが知られてい

る。実際に高脂肪食後の IMCL の蓄積には大きな個人差があり、非肥満者の中でも IMCL を蓄積しやすい人が代謝障害をより発症しやすいのかもしれない。そこで我々は、高脂肪食負荷後の IMCL の増加の程度を「脂肪負荷感受性」と新たに定義し、そこに関わる生活習慣や体質などについて検討を行った。具体的には、最終的に 50 名の非肥満男性に対して 3 日間の高脂肪食を負荷し、骨格筋細胞内脂質の変化やインスリン抵抗性の変化について観察を行った<sup>22, 23)</sup>。3 日間の普通食摂取後に、3 日間の高脂肪食（炭水化物 20 %、脂質 60 %、蛋白質 20 %）を摂取させ、それぞれの食事後に空腹時の条件下で IMCL を測定し、高インスリン正常血糖クランプにより骨格筋のインスリン感受性を測定した。50 名の内、30 名の被験者においては高脂肪食前後に骨格筋生検を行い、その解析も行った<sup>22)</sup>。この間の身体活動量については、事前に配布した活動量計により普段の活動量を計測し、試験期間内はその活動量の平均値  $\pm 10$  % の範囲内で活動するように被験者へお願いした。そのため、普段から活動量が低い、例えば歩数が 1 日 3,000 歩程度の人は、試験期間中もそのまま活動し、10,000 歩くらいの人は同様に試験期間中もほぼ同等の活動量を維持した。その結果、前脛骨筋における細胞内脂質は有意に 40 % 程度増加し、その一方で、骨格筋のインスリン感受性は有意に 7 % 低下を認めた<sup>23)</sup>。しかし、その変化には大きな個人差があった。そこで、これら両者の変化をグラフにプロットすると、弱いながらも負の相関があることが明らかとなった（図 2）。つまり、高脂肪負荷感受性を示す人ほどインスリン感受性が低下しやすい（図 2：fat-sensitive な被験者 ●）。その一方で脂肪負

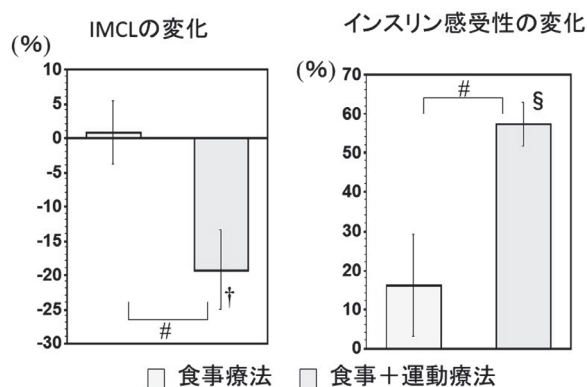


図 1 食事：運動療法による IMCL とインスリン感受性の変化

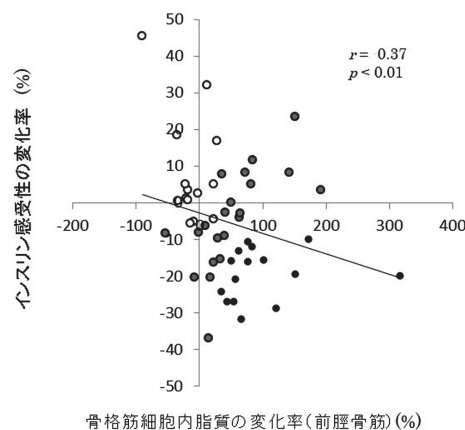


図 2 高脂肪食後の骨格筋におけるインスリン感受性と細胞内脂質の変化率の関連



荷感受性が低い被験者も多数いた（図2：fat-resistantな被験者 ○）。

次に、何がこの脂肪荷感受性を規定しているのかを様々な面で検討した<sup>23)</sup>。例えば、骨格筋のミトコンドリア量が少ないと脂質が燃焼せずにIMCLが蓄積しやすくなる可能性がある。そこで、生検で得られた検体についてミトコンドリア量を測定したところ、有意では無いものの、骨格筋ミトコンドリア量が少ない人ほどIMCLが蓄積しやすい傾向を認めた ( $r = 0.42$ ,  $P = 0.09$ )。さらには、マイクロアレイにより fat-sensitive な群と fat-insensitive な群の遺伝子発現を網羅的に解析し比較したが、IMCLの蓄積を説明する有意な変化を認めなかった。

そこで、その他の生活習慣因子や血中のアディポサイトカインとの関連性を検討したところ<sup>22)</sup>、高分子型アディポネクチンの血中濃度が低い人ほど、IMCLが蓄積されやすいことが明らかとなった。さらに、被験者を普段、週1回以上運動している群と、そうでない群の2群に分けて解析したところ、運動していない群では、骨格筋細胞内脂質の増加と日常身体活動量に強い負の相関があった（図3）。これらのことから、普段の歩行が脂質燃焼を介して骨格筋における脂質蓄積に抑制的に働いていることが推察された。アディポネクチンについても、骨格筋における脂質燃焼を促進する役割があるため、同様の機序で脂肪荷感受性の規定因子になっているのかもしれない。

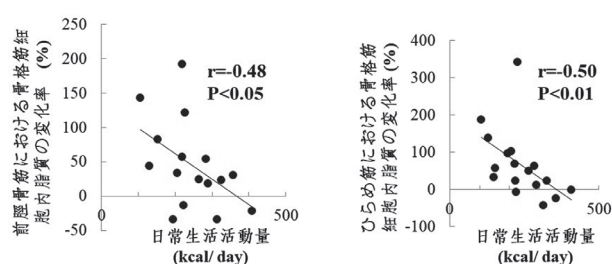


図3 日常生活活動量と骨格筋細胞内脂質の関連

## 5. 非肥満者におけるインスリン抵抗性とIMCLの関連性

これらの研究から、非肥満アジア人においても何らかの生活習慣が影響して、IMCL、IHL蓄積が生じ、インスリン抵抗性になり、それがアジア人において非肥満者でありながら代謝障害をきたし易い人がある原因となっ

ている可能性が考えられる。そこで我々はBMIが23～25kg/m<sup>2</sup>の日本人男性を70名集め、横断研究を行った（Sportology Center Core Study）<sup>24)</sup>。特にこの研究では9時間かけて骨格筋と肝臓のインスリン感受性を分けて測定する、2-step（10 and 20 mU/m<sup>2</sup> body surface area per minute）hyperinsulinemic euglycemic clamp法を導入し、それぞれの臓器特異的なインスリン感受性を計測した。その結果、この集団であっても1個でもメタボリックシンドロームのリスクファクターを持っていると骨格筋のインスリン抵抗性を認めることが明らかとなった。また、各種パラメーターとの関連性を見ると、骨格筋インスリン抵抗性は中性脂肪の増加と良く相関し、また、肝インスリン抵抗性は空腹時血糖上昇と良く相関していた。しかし、筋と肝インスリン感受性の相関は必ずしも高く無く ( $r = -0.38$ )、この集団ではそれぞれ独立した規定因子があることが推察された。そこで、それぞれのインスリン感受性と各種パラメーターの関連性を検証した。その結果、骨格筋インスリン感受性は、MRIで評価した内臓脂肪面積 ( $r = -0.31$ )、最大酸素摂取量 ( $r = 0.40$ )、日常身体活動量 ( $r = 0.25$ )、高分子アディポネクチン ( $r = 0.48$ )、タンパク摂取量 ( $r = -0.29$ )、脂質摂取量 ( $r = -0.25$ )、C-reactive protein ( $r = -0.26$ ) とそれぞれ相関することが明らかとなった。興味深いことに、幾つかの因子は脂肪荷感受性に関連しているパラメーターと重複していた<sup>22)</sup>。

その一方で、この集団においてIMCLと骨格筋インスリン感受性は必ずしも相関しなかった。これに関連して、持続的なトレーニングを多く行っているアスリートではIMCLが多いがインスリン感受性も高く、現在までにアスリートパラドックスとして知られている<sup>25)</sup>。本研究の集団においてもアスリートパラドックスと同様の関連性を示す者が散見されており、それがIMCLと骨格筋インスリン感受性の関連性を低下させていると推測された。

肝臓のインスリン感受性についてはIHLと負の相関を示すとともに、飲酒量も弱いながら負の関連性を認めた。我々が行った、1週間の禁酒を行う介入研究により<sup>26)</sup>、肝臓のインスリン抵抗性と空腹時高血糖が改善したため、アルコールが肝インスリン抵抗性の原因となっていることが推測された。実際に我が国ではBMI ≤ 22.0kg/m<sup>2</sup>では飲酒が中程度であっても糖尿病発症リスクであることが示唆されている<sup>27-29)</sup>。

## 6. アスリートパラドックスを規定する遺伝子

アスリートパラドックスの分子メカニズムは現在まで完全には明らかとなっていないが、IMCL が蓄積している、骨格筋における酸化能（oxidative capacity）が高いとインスリン抵抗性が生じにくいことが明らかとなっており、酸化能の亢進がアスリートパラドックスの一つのメカニズムとして注目されている。確かに我々の検討でも、IMCL が蓄積している者ほど最大酸素摂取量が高い傾向を認め、この仮説と矛盾しない<sup>21)</sup>。そこで、さらにこのメカニズムを探索するために、骨格筋サンプルの解析を行った。具体的には、非アスリートにおいても、IMCL が増加しているがインスリン感受性が高いアスリート型の被験者が存在していることを発見し、得られた骨格筋生検サンプルの解析を行った。その結果、アスリート型の被験者では、IMCL が蓄積しインスリン感受性が低下しているインスリン抵抗性型の被験者に比べて最大酸素摂取量が高く、骨格筋における脂肪酸輸送担体である plasma membrane-associated fatty acid-binding protein (FABPpm) の遺伝子発現が増加していた。その一方で、インスリン抵抗性型では fatty acid transporter protein (FATP)-1 の遺伝子発現が増加していることが明らかとなった。次に、それぞれの遺伝子を C2C12 筋管細胞に過剰発現させると、FABPpm では細胞内に流入した脂質は脂質酸化やミトコンドリアの増加に関わる遺伝子発現が有意に高まり、より脂質が燃焼しやすくなったが、FATP1 ではそのような変化を全く認めなかった。また、8 週間の有酸素運動によるトレーニングは、骨格筋における FABPpm の発現を増加させ、FATP1 の発現を低下させることがすでに明らかとなっている<sup>30)</sup>。これらのことから、持続的なトレーニングによる脂肪酸輸送担体の違いがアスリートパラドックスのメカニズムの一部となっている可能性が示唆された<sup>31)</sup>

(図 4)。

このように、長距離ランナーでは脂質が骨格筋細胞内に、より取り込まれやすくなっているのと同時に、骨格筋細胞内へ流入した脂肪酸が peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) などといった転写因子のリガンドとなり、増加した脂肪酸に対する酸化能を増加させ、競技に有利なような適応に結び付いている可能性がある。実際に、前述のように高脂肪負荷食前後に骨格筋生検を行い、その前後の遺伝子の発現レベルを検討したところ、高脂肪食により IMCL が蓄積した fat-sensitive な被験者では脂肪酸酸化を高めるような遺伝子発現が高まったが、IMCL にあまり変化が無かった集団 (fat-resistant) ではそのような変化を認めなかった<sup>23)</sup>。このことは、流入した脂肪酸が骨格筋における脂肪酸燃焼に促進的に働く裏付けの一つと推測される。

## 7. 脂肪肝と骨格筋インスリン抵抗性の関連

アジア人では、比較的低い BMI であっても非アルコール性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) になりやすい<sup>32, 33)</sup>。また、我が国では脂肪肝は独立した 2 型糖尿病発症のリスクファクターであることが知られている<sup>34)</sup>。NAFLD では、脂肪組織から放出される FFA が肝臓に蓄積した脂質のメインソースとなっていることが示されている<sup>9)</sup>。これは脂肪組織におけるインスリン抵抗性により、容易に FFA が放出され、脂肪肝となることが推察され、この両者には関連性がある<sup>35-37)</sup>。その一方で我々の検討により、非肥満非糖尿病患者<sup>24)</sup>、非肥満 2 型糖尿病<sup>38)</sup> のいずれも骨格筋インスリン抵抗性が脂肪肝蓄積と関連していることが明らかとなった。この関連性は、骨格筋で取り込まれるべき糖質がインスリン抵抗性のため取り込まれず、余剰の糖質が肝臓に運ばれ、de novo hepatic lipogenesis により中性脂肪が合成され、高中性脂肪血症や脂肪肝につながるカスケードにより生じていることが想定されている<sup>39, 40)</sup>。

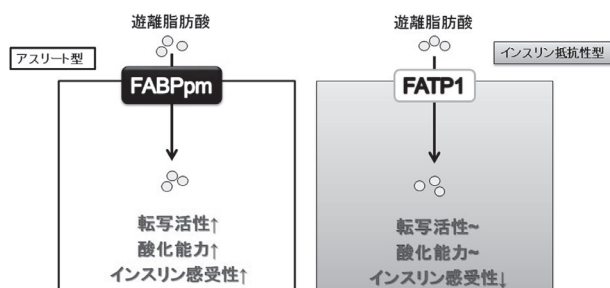


図 4 脂肪酸輸送担体とアスリートパラドックス (仮説)

## &lt;参考文献&gt;

- 1) Groop LC, Saloranta C, Shank M, Bonadonna RC, Ferrannini E, DeFronzo RA. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72 (1) :96-107.
- 2) Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 2002;32 Suppl 3:14-23.
- 3) Bachmann OP, Dahl DB, Brechtel K, Machann J, Haap M, Maier T, et al. Effects of intravenous and dietary lipid challenge on intramyocellular lipid content and the relation with insulin sensitivity in humans. *Diabetes.* 2001;50 (11) :2579-84.
- 4) Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes.* 2002;51 (7) :2005-11.
- 5) Lam TK, Carpentier A, Lewis GF, van de Werve G, Fantus IG, Giacca A. Mechanisms of the free fatty acid-induced increase in hepatic glucose production. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284 (5) :E863-73.
- 6) Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a <sup>1</sup>H NMR spectroscopy study. *Diabetologia.* 1999;42 (1) :113-6.
- 7) Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, et al. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes.* 1999;48 (5) :1113-9.
- 8) Virkamaki A, Korshennikova E, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Goto T, Halavaara J, et al. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. *Diabetes.* 2001;50 (10) :2337-43.
- 9) Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest.* 2005;115 (5) :1343-51.
- 10) Chan JC, Malik V, Jia W, Kadowaki T, Yajnik CS, Yoon KH, et al. Diabetes in Asia: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *JAMA.* 2009;301 (20) :2129-40.
- 11) International-Diabetes-Federation. *IDF Diabetes Atlas.* 2014;6th edition.
- 12) Pan WH, Yeh WT, Weng LC. Epidemiology of metabolic syndrome in Asia. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17 Suppl 1:37-42.
- 13) World-Health-Organization. *The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment.* Sydney: Health Communications Australia; 2000.
- 14) Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F, Dobbins RL, Garg A, Burns DK, et al. Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1999;276 (5 Pt 1) :E977-89.
- 15) Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science.* 2003;300 (5622) :1140-2.
- 16) Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2004;350 (7) :664-71.
- 17) Tamura Y, Tanaka Y, Sato F, Choi JB, Watada H, Niwa M, et al. Effects of diet and exercise on muscle and liver intracellular lipid contents and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90 (6) :3191-6.
- 18) Sato F, Tamura Y, Watada H, Kumashiro N, Igarashi Y, Uchino H, et al. Effects of diet-induced moderate weight reduction on intrahepatic and intramyocellular triglycerides and glucose

- metabolism in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92 (8) :3326-9.
- 19) Decombaz J, Schmitt B, Ith M, Decarli B, Diem P, Kreis R, et al. Postexercise fat intake repletes intramyocellular lipids but no faster in trained than in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;281 (3) :R760-9.
- 20) Schrauwen-Hinderling VB, Kooi ME, Hesselink MK, Moonen-Kornips E, Schaart G, Mustard KJ, et al. Intramyocellular lipid content and molecular adaptations in response to a 1-week high-fat diet. *Obes Res.* 2005;13 (12) :2088-94.
- 21) Tamura Y, Watada H, Igarashi Y, Nomiya T, Onishi T, Takahashi K, et al. Short-term effects of dietary fat on intramyocellular lipid in sprinters and endurance runners. *Metabolism.* 2008;57 (3) :373-9.
- 22) Sakurai Y, Tamura Y, Takeno K, Kumashiro N, Sato F, Kakehi S, et al. Determinants of intramyocellular lipid accumulation after dietary fat loading in non-obese men. *J Diabetes Investig.* 2011;2 (4) :310-7.
- 23) Kakehi S, Tamura Y, Takeno K, Sakurai Y, Kawaguchi M, Watanabe T, et al. Increased intramyocellular lipid/impaired insulin sensitivity is associated with altered lipid metabolic genes in muscle of high responders to a high fat diet. *American journal of physiology.* 2015;ajpendo 00220 2015.
- 24) Takeno K, Tamura Y, Kawaguchi M, Kakehi S, Watanabe T, Funayama T, et al. Relation between insulin sensitivity and metabolic abnormalities in Japanese men with BMI of 23-25 kg/m<sup>2</sup>. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101 (10) :3676-84.
- 25) Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86 (12) :5755-61.
- 26) Funayama T, Tamura Y, Takeno K, Kawaguchi M, Kakehi S, Watanabe T, et al. Effects of alcohol abstinence on glucose metabolism in Japanese men with elevated fasting glucose: A pilot study. *Sci Rep.* 2017;7:40277.
- 27) Tsumura K, Hayashi T, Suematsu C, Endo G, Fujii S, Okada K. Daily alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes in Japanese men: the Osaka Health Survey. *Diabetes Care.* 1999;22 (9) :1432-7.
- 28) Waki K, Noda M, Sasaki S, Matsumura Y, Takahashi Y, Isogawa A, et al. Alcohol consumption and other risk factors for self-reported diabetes among middle-aged Japanese: a population-based prospective study in the JPHC study cohort I. *Diabet Med.* 2005;22 (3) :323-31.
- 29) Seike N, Noda M, Kadowaki T. Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in Japanese: a systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17 (4) :545-51.
- 30) Jeppesen J, Jordy AB, Sjoberg KA, Fullekrug J, Stahl A, Nybo L, et al. Enhanced fatty acid oxidation and FATP4 protein expression after endurance exercise training in human skeletal muscle. *PLoS One.* 2012;7 (1) :e29391.
- 31) Kawaguchi M, Tamura Y, Kakehi S, Takeno K, Sakurai Y, Watanabe T, et al. Association Between Expression of FABPpm in Skeletal Muscle and Insulin Sensitivity in Intramyocellular Lipid-Accumulated Nonobese Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99 (9) :3343-52.
- 32) Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia--as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013;10 (5) :307-18.
- 33) Azuma K, Kadowaki T, Cetinel C, Kadota A, El-Saed A, Kadowaki S, et al. Higher liver fat content among Japanese in Japan compared with non-Hispanic whites in the United States. *Metabolism.* 2009;58 (8) :1200-7.
- 34) Yamada T, Fukatsu M, Suzuki S, Wada T, Yoshida T, Joh T. Fatty liver predicts impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in Japanese undergoing a health checkup. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25 (2) :352-6.
- 35) Kotronen A, Juurinen L, Tiikkainen M, Vehkavaara S, Yki-Jarvinen H. Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue



- insulin resistance in type 2 diabetes. Gastroenterology. 2008;135 (1) :122-30.
- 36) Kotronen A, Seppala-Lindroos A, Bergholm R, Yki-Jarvinen H. Tissue specificity of insulin resistance in humans: fat in the liver rather than muscle is associated with features of the metabolic syndrome. Diabetologia. 2008;51 (1) :130-8.
- 37) Bril F, Barb D, Portillo-Sanchez P, Biernacki D, Lomonaco R, Suman A, et al. Metabolic and histological implications of intrahepatic triglyceride content in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology (Baltimore, Md. 2017;65 (4) :1132-44.
- 38) Furukawa Y, Tamura Y, Takeno K, Funayama T, Kaga H, Suzuki R, et al. Impaired peripheral insulin sensitivity in non-obese Japanese patients with type 2 diabetes mellitus and fatty liver. J Diabetes Investig. 2017;9 (3) :529-35.
- 39) Rabol R, Petersen KF, Dufour S, Flannery C, Shulman GI. Reversal of muscle insulin resistance with exercise reduces postprandial hepatic de novo lipogenesis in insulin resistant individuals. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108 (33) :13705-9.
- 40) Flannery C, Dufour S, Rabol R, Shulman GI, Petersen KF. Skeletal muscle insulin resistance promotes increased hepatic de novo lipogenesis, hyperlipidemia, and hepatic steatosis in the elderly. Diabetes. 2012;61 (11) :2711-7.

## 略歴

田村 好史(たむら よしふみ)博士(医学)

- 1997 年 3 月 順天堂大学医学部卒業
- 2000 年 10 月 カナダ・トロント大学生理学教室・研究生
- 2005 年 3 月 順天堂大学大学院医学研究科内科系代謝内分泌学  
専攻博士課程修了
- 2007 年 4 月 順天堂大学医学部内科学 代謝内分泌学講座 准教授
- 2016 年 1 月 スポーツ庁・参与(併任)
- 2017 年 7 月 順天堂大学国際教養学部国際教養学科 グローバル  
ヘルスサービス領域 教授(併任)

# 生ビール製造における微生物検査法の開発

アサヒグループホールディングス株式会社  
グループ食の安全研究所

鈴木 康司



アサヒビール株式会社  
酒類技術研究所

浅野 静



## 要 旨

生ビールとは加熱殺菌処理をしないで製品化したビールのことである。日本では生ビールが市場のほとんどを占めており、熱殺菌ビールが主流である諸外国と異なる。その一方で、微生物品質事故を発生させずに生ビールを製造する技術的ハードルは高く、日本のビール産業はその安定製造のために高度な微生物管理技術を発展させてきた。特に、ビール製造環境に潜む品質危害微生物は、食品業界の中でも、品質検査が非常に難しい微生物群であることが知られている。これら検査の難しい微生物に対して、漏れのない正確な微生物検査法をいかに開発し、ビール工場の製造環境から品質危害微生物を撲滅するかが、生ビール安定製造の肝である。このような背景のもと、日本のビール業界は世界に先駆けて、生ビール品質を守る最先端検査技術を構築してきたのである。本稿では、日本が世界に誇る生ビール製造を下支えしている微生物検査技術とその開発について、ビール工場の微生物管理の場で活躍している品質検査培地と遺伝子検査を中心に概説したい。

\* \* \* \* \*

## <Summary>

Unpasteurized beer is the dominant market segment in Japan. This situation is in sharp contrast to that of other countries where most beer products are pasteurized. The stable production of unpasteurized beer is difficult because the strict microbiological control is required in breweries. In particular, beer spoilage microorganisms are hard to detect by conventional microbiological quality control (QC) tests adopted by the brewing industry. It is therefore essentially important to develop comprehensive and reliable QC tests to eliminate beer spoilage microorganisms latent in breweries. The Japanese brewers have strived to develop microbiological QC media and discriminative methods for beer spoilage ability of detected microorganisms. In this paper, the Japanese technologies that allow the stable production of unpasteurized beer will be explained.

Development of Microbiological Quality Control  
Methods in Unpasteurized Beer Production

KOJI SUZUKI<sup>1</sup> and SHIZUKA ASANO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food Safety Laboratories  
Asahi Group Holdings, Ltd.

<sup>2</sup> Research Laboratories for Alcohol Beverages  
Asahi Breweries, Ltd.

## 1. はじめに

皆さんは生ビールを英語で Unpasteurized beer と言うのをご存知でしょうか？ 1871 年、微生物学の父であった Pasteur（パスツール）は、普仏戦争で祖国フランスが敗れたことをきっかけに、科学の力でドイツを見返したいと考えビールの研究を始めたという<sup>1)</sup>。ドイツ製より美味しいビールを造りたいと思い立った Pasteur が欧州で銘醸造とされていたビールを各地から取り寄せたところ、全て腐敗する現象を観察し、科学で造る美味しいビールとは微生物腐敗の発生しないビールであると考へた。そこから生まれたのがビールの熱殺菌法“Pasteurization”であり、それまで工場の近隣でしか美味しさが担保できないほど日持ちしなかったビールが、世界のどこでも美味しさを損なわず楽しむことができるようになった。Pasteurization は近代ビール三大発明の最初の一つであり、科学の力で美味しいビールを造る Brewing Science は、Pasteur の熱殺菌法の開発にその起源を求めることができる。ビール産業で最も広く使用される醸造酵母の学名が、Pasteur の名を冠し *Saccharomyces pastorianus* と呼ばれているのもそのためであろう。

一方、日本では諸外国と異なり、生ビールが主流である。生ビールとは、冒頭で“Unpasteurized beer”と欧米で呼ばれていると記述したが、加熱殺菌を施さず製品化されたビールのことで、居酒屋さんで提供されるジョッキ入りの樽生ビールだけでなく、瓶や缶で販売されているビールも日本ではほぼ全て生ビールである。これは、日本以外で製造されるビールのほとんどが、樽ビールを含め加熱殺菌ビールであるのと対照的である。生ビールは、醸造工程以降、一切加熱処理を加えないため、熱殺菌による香味の劣化がなくビール本来の新鮮な味わいを楽しむことができる。日本のビール産業は、ビール工場でしか飲めないあの新鮮で研ぎ澄まされたビールの味をお客様にお届けするため、生ビール製造技術に挑戦してきたのである。このような背景のもと、1970 年代から 1980 年代前半にはまだまだマイナーだった生ビール市場は、1987 年 3 月にアサヒスーパードライが発売されたことを一つの契機として生ビール市場が急速拡大し、1990 年代には日本で販売されるほとんど全てのビールが生ビールとなった。しかしながら、そこに至る道は決して平坦なものではなかった。1980 年代

後半から 1990 年代前半、日本のビール産業において、微生物による品質事故や品質トラブルが発生するようになったのである。「微生物のことが心配で夜も眠れない」、生ビールを製造する工場長からこんな言葉が漏れるようになったのもこの頃である。あれから四半世紀が経過し、筆者らの認識する限り、国内大手ビール各社における微生物品質事例は 1990 年代後半以降たったの 1 例も発生していない。Pasteur の時代、日持ちしない飲料とされたビールが、日本では熱殺菌なしにその賞味期限である 9 か月間、室温流通しているのである。本稿では、日本が世界に誇る生ビール製造を下支えしている微生物検査技術とその開発について述べたい。

## 2. 未知ビール混濁菌種の台頭

ビールは天然抗菌成分であるホップ成分を含むこと、pH が概ね 3.8～4.7 程度と低いこと、溶存酸素がほとんどない嫌気状態であること、ビール酵母の発酵活動により残存栄養成分が少ないこと等の理由から、微生物安定性が高い飲料であることが知られている<sup>2)</sup>。実際に、ビール製造環境以外から分離される一般微生物を製品ビールに植菌しても、生育性を示すことは極めて少ない。冒頭にビールは日持ちしない飲料であると記載したことに矛盾するようにも思えるが、このパラドックスについては後述したい。ビールに生育し、混濁など変敗現象を引き起こす微生物（以降、ビール混濁菌）には乳酸菌が多い。欧州における 30 年以上の統計においても、ビールにおける品質事故の 70～90 % は乳酸菌によって引き起こされている<sup>3)</sup>。日本で生ビール市場が急速拡大を始めていた 1980 年代には、ビール混濁乳酸菌は、*Lactobacillus brevis* や *Pediococcus damnosus* の 2 菌種が代表的であり、当時はビールに生育性を示す乳酸菌は 2～3 菌種程度ではないかとする微生物研究者も少なかった。しかしながら、1990 年代以降、新たなビール混濁乳酸菌種が続々と出現し、ビール混濁性の定義にもよるが、現在では 20 菌種以上を数えるようになった<sup>4)</sup>。

一方、ビール製造環境や製品ビールから微生物が検出された場合、ごく一部の微生物しかビールで生育性を示さないため、その品質危害性について詳細に把握する必要がある。この際用いられていた伝統的なビール混濁性判定法は、検出菌を実際のビールに植菌して 1 か月ある

いはそれ以上観察してその生育性を判定するものであった。これは、上述の理由によりビールの微生物安定性が高く、植菌後、肉眼でビール混濁が観察されるまで、混濁性の強い微生物でも 10 日程度、弱いものでは 100 日程度を要するためである。1990 年代以降には、遺伝学的手法や免疫学的手法に基づいた菌種同定法により、迅速に検出菌のビール混濁性を菌種情報から予見できるようになった。ところが、これら迅速ビール混濁性判定法は、いずれも既知の菌種に対するものであり、未知混濁菌種や新菌種に対しては有効な対抗手段とならなかった。また、これに加えて、既知ビール混濁菌種であっても、同一菌種内で強いビール混濁性を示す株もあれば全く示さない株もあり、菌種同定によるビール混濁性判定法の実運用を難しくした。日本国内において生ビール市場が急拡大する中、微生物検査技術の進化が追い付かず、未知菌種・新菌種への対抗策や既知混濁菌種内におけるビール混濁性有無の判別法が切望されていた。

### 3. ビール混濁乳酸菌のホップ耐性研究

1990 年代以降、ビールに変敗を引き起こす未知菌種、新菌種の出現が続いたが、既知菌種を含めこれら乳酸菌種には、ビール中の天然抗菌成分であるホップに対する耐性を獲得しているという共通の特徴があった<sup>5)</sup>。そこで筆者らは、乳酸菌のビール混濁性を決定する主要因子であるホップ耐性に着目し、本因子により菌種という枠を超えて乳酸菌のビール混濁性を判定できる遺伝子マーカー探索を行うこととした。この研究過程で、ホップ耐性遺伝子 *horA* は、強いビール混濁性を示す *L. brevis* ABBC45 株が保有する 15.1kb のプラスミド pRH45 に見出された<sup>6)</sup>。一般に多くのビール混濁乳酸菌は、徐々にホップ濃度を高めた培地で植え継ぐことにより次第に高いホップ耐性を獲得するが、この現象はホップ馴化と呼ばれている。pRH45 は、*L. brevis* ABBC45 株のホップ耐性がホップ馴化により高くなるにつれ、コピー数が増加する性質を有していた。このため、本プラスミドが ABBC45 株にホップ耐性を賦与する一因子であると推察し、pRH45 に関する解析を進めた。まずは、pRH45 のホップ耐性への関与を示すため、本プラスミドを欠失した変異株を得ることとした。筆者らが変異株取得に取り組んでいた 1990 年代には、当時乳酸菌のホップ耐性

研究の大家であった W. J. Simpson らの先行研究により、ビール混濁乳酸菌のホップ耐性は安定形質でありホップ耐性を喪失した株は取得できないとされ、それがいわば定説となっていた<sup>7-9)</sup>。我々も 3 年にわたり様々なプラスミド・キュアリング法等を評価したが、ホップ耐性変異株の取得には至らなかった。そこで、少し発想を変えることとした。当時のビール醸造微生物学の参考書には、ビール混濁乳酸菌は 28℃ 以下で培養しなければならないと記載されていた<sup>3)</sup>が、敢えてそれを破ってみることにしたのである。その結果、ABBC45 株を通常の培養温度より高い 30℃ で継代培養を繰り返し行うことにより pRH45 が欠失した変異株 ABBC45<sup>c</sup> 株を得ることができた<sup>5)</sup>。本変異株のホップ耐性を評価したところ、野生株の 1/2 程度のホップ耐性しか示さないことが判明した。これが、100 年以上の歴史を持つビール混濁乳酸菌研究において、ホップ耐性変異株取得の初めての事例となった。一方、pRH45 に見出された *horA* 遺伝子の産物は、推定されるアミノ酸配列から *Lactococcus lactis* 由来の多剤排出ポンプである LmrA と 53 % の同一性を示すことがわかり<sup>6)</sup>、本遺伝子は多剤排出ポンプをコードしていることが示唆された。そこで、筆者らは *Lactococcus lactis* を用いた *horA* 遺伝子発現系を構築し、本遺伝子がホップ耐性を賦与する多剤排出ポンプとして機能する ABC トランスポーターであることを実証した<sup>10)</sup>。本研究は、醸造微生物学において初めてのホップ耐性遺伝子の発見およびその機構の解明につながり、一世紀以上謎とされてきたホップ耐性機構解明に大きな一歩を記し、踏み出すこととなった。

ホップ耐性が低減した ABBC45<sup>c</sup> 株には依然としてビール混濁性が残存しており、*horA* 遺伝子以外にもホップ耐性機構が存在すると考えられた。ABBC45<sup>c</sup> 株取得の際、通常培養温度より高い 30℃ で培養することでホップ耐性を弱めることができたため、さらにホップ耐性が低減した変異株の取得を目指し、培養温度を 37℃ に高めて ABBC45<sup>c</sup> 株を継代培養した。その結果、ビール混濁性を完全に失った変異株 ABBC45<sup>cc</sup> 株を取得することに成功した<sup>11)</sup>。また、得られた ABBC45<sup>cc</sup> 株は、ビール非混濁性 *L. brevis* である JCM 1059<sup>T</sup> 株と同等のホップ耐性しか示さないこともわかった。

ABBC45<sup>cc</sup> 株は ABBC45<sup>c</sup> 株と比較して、約 23.4kb のプラスミド (pRH45 II) が消失していたため、このプラスミドの解析を進めた。その結果、pRH45 II は



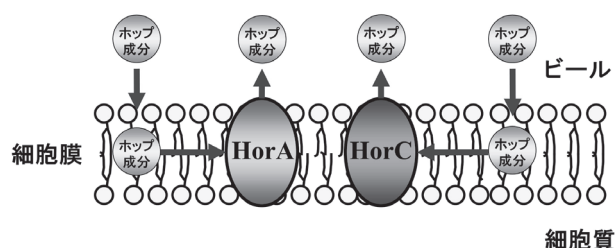


図1 HorA および HorC タンパク質によるホップ耐性機構

Figure 1 Hop resistance mechanisms conferred by HorA and HorC

ラスミドごと脱落しているわけではなく、一部の領域が欠失し、残りの領域は ABBC45<sup>CC</sup> 株に残存していた<sup>11)</sup>。このため、欠失領域がビール混濁性の喪失に関係していると考えた。ABBC45<sup>C</sup> 株を用いた生化学的な実験結果から、ABBC45<sup>C</sup> 株にはプロトン駆動力依存型のホップ耐性機構が存在するという知見を得ていたため、欠失領域に存在していた 12 個の ORF (Open Reading Frame) の中から、RND スーパーファミリーのプロトン駆動力依存型排出ポンプに類似した二次構造をコードする ORF (*horC* 遺伝子) に着目した<sup>12)</sup>。*horC* 遺伝子がホップ耐性遺伝子としての機能を有しているか検証するため、本遺伝子の機能解析は ABBC45<sup>CC</sup> 株に *horC* 遺伝子を再導入することにより行った。その結果、得られた *horC* 遺伝子導入株は ABBC45<sup>C</sup> 株の水準までホップ耐性が上昇しており、第 2 のホップ耐性遺伝子として特定された。さらに、*horC* 遺伝子導入株においてはビール混濁性が回復することも確認され、ビール非混濁乳酸菌株にビール混濁性を賦与できた初めての事例となった<sup>13)</sup>。また、本実証実験では、*L. brevis* 初となる機能発現ベクターの開発にも成功した。なお、HorC タンパク質も HorA タンパク質と同様にホップ成分の排出ポンプとして機能していると推測している (図 1)。

#### 4. 未知ビール混濁菌種検査法の開発

いったんホップ耐性変異株の取得法が明らかとなると、類似のアプローチでビール混濁菌 4 菌種計 10 株から、ビール混濁性を失った変異株を取得することができた<sup>5)</sup>。全ての変異株について *horA* 遺伝子および *horC* 遺伝子全長をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション試験を実施した結果、ビール混濁性の喪失に伴い、

*horA* 遺伝子あるいは *horC* 遺伝子の欠失が認められた。そのため、新たに見出されたホップ耐性遺伝子 *horA* ならびに *horC* により、菌種の枠を超えてビール混濁乳酸菌判定が可能か否かについて、種々の乳酸菌種に属す約 170 株を用いて調査を行った<sup>4)</sup>。PCR 法ならびにサザンブロット解析により検討した結果、ビール混濁乳酸菌 88 株については、*horA* ホモログの保有率は 93.2 %、*horC* ホモログの保有率は 97.7 %であり、いずれも優れたビール混濁性判定マーカーとなるものの、単独の遺伝子マーカーでは擬陰性反応を生じることも明らかとなった。一方、2 つの遺伝子マーカーを併用した場合、調査したすべての混濁株が少なくともいずれか 1 つの遺伝子マーカーを保有していることがわかり、*horA* ならびに *horC* は、漏れのない検査法という観点でお互いに補完できる関係にあることが判明した。また、ビール非混濁乳酸菌に対しては、*horA* では僅かに擬陽性反応が認められるものの、*horC* には調査した範囲内で擬陽性反応は認められなかった。さらに、ビール混濁性を持たない腸内細菌科や芽胞菌のような環境頻出細菌については、*horA* あるいは *horC* を保有する株は認められなかった。以上のことから、菌種に依存しないビール混濁性判定マーカーという新規概念により網羅的なビール混濁乳酸菌検査法が構築できる可能性が示され、本検査法の実運用への展開に向かって大きな前進を遂げることとなった。なお、筆者らが知る限り、食品の変敗形質を標的とした遺伝子マーカーで、菌種の枠を超えて網羅的な微生物検査を可能にした事例は、食品産業で最初のものであったように思う。

*L. brevis* ABBC45 株に見出されたホップ耐性遺伝子 *horA* および *horC* はプラスミドに存在しており、さらにこれら遺伝子の周辺領域にはトランスポゼースなど DNA 断片の転移に関与する遺伝子群が存在していた<sup>2)</sup>。このことから、*horA* および *horC* 遺伝子はプラスミドやトランスポゾンを通じて伝播していることが推察された。そこで、*L. brevis* 以外の菌種が保有する *horA* 遺伝子周辺領域 5.6kb および *horC* 遺伝子周辺領域 8.2kb について塩基配列を決定し、詳細な解析を行った。その結果、解析に用いたビール混濁乳酸菌 *L. lindneri* DSM 20690<sup>T</sup> 株、*L. paracollinoides* JCM 11969<sup>T</sup> 株、*P. damnosus* ABBC478 株の *horA* および *horC* 遺伝子周辺領域は、いずれも *L. brevis* ABBC45 株の当該領域と全く同じ ORF 構造が保存されていた。さらに、これらの菌

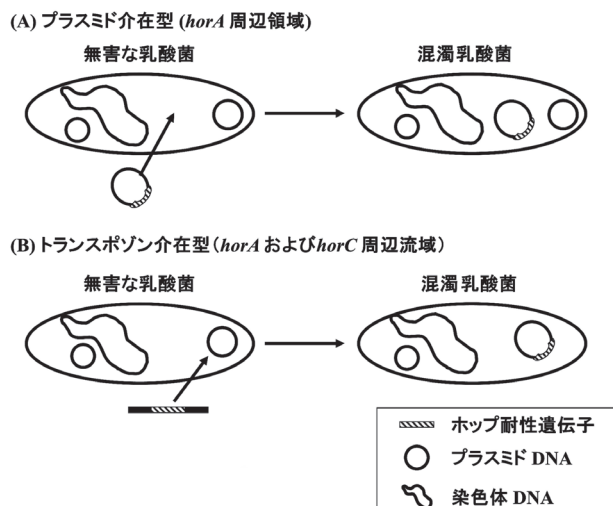


図2 ホップ耐性遺伝子の水平伝播仮説

Figure 2 Hypothetical horizontal transfer of hop resistance genes

株は属あるいは種が異なるにも拘わらず、解析領域内の塩基配列は約 99 % の相同性を示していた<sup>2)</sup>。以上のことはホップ耐性遺伝子が乳酸菌の属あるいは種を超えて水平伝播していることを強く示唆するものである(図2)。

筆者らの提唱したホップ耐性遺伝子の水平伝播仮説は、*horA* および *horC* 遺伝子をマーカーとして乳酸菌のビール混濁性を判定する上で、理論的根拠を与えるものとなった。さらに重要なことは、これまでビール産業で問題になってきた新菌種・未知菌種の出現に対して、初めて有効な検査法となる可能性を示せたことである。実際、1990 年以降に台頭してきた新ビール混濁菌種のうち、当社調査でビール混濁性を示すことが確認された全ての新混濁菌種について検証してみた。その結果、調査したいずれの新混濁菌種も、*horA* および *horC* 遺伝子の少なくとも一方を保有していることがわかり、ホップ耐性遺伝子を判定マーカーとする検査法が、新菌種・未知菌種を含めた網羅的微生物検査法に有用であることが示されている。これに加え、同一ビール製造環境で分離されたビール混濁菌種 *Lactobacillus backi* と *Pediococcus inopinatus* について、*horA* 周辺領域約 5.6kb を比較解析した結果、全領域においてその塩基配列が 100.0 % 完全に一致し、ホップ耐性遺伝子の水平伝播仮説をさらに強化する論拠となっている<sup>14)</sup>。

## 5. 検出困難な乳酸菌の検査培地の開発

日本における急速な生ビール市場の拡大に伴い顕在化した微生物品質リスクとして、新ビール混濁菌種の台頭に加え、もう一つ我々を悩ませた大きな問題があった。それは、多くのビール混濁乳酸菌が、ビール工場で用いられる品質検査培地に生育性を示さないことが多いという点である。ビール混濁乳酸菌は、微生物学の父であった Pasteur により発見された。1871~72 年に行われた Pasteurization 実証試験の中でも、混濁ビールを標本として Pasteur 自身がスケッチした顕微鏡画像にビール混濁乳酸桿菌が描かれている<sup>1)</sup>。1892 年には、van Laer により、ビール産業で初めてビール混濁乳酸桿菌が分離培養され、Pasteur の偉業を称えて *Saccharobacillus pastorianus* (後に *Lactobacillus pastorianus*) と命名された<sup>15)</sup>。顕微鏡観察による発見から初めての分離培養成功に 20 年を要したことになる。分離当時の記録によると、*Lactobacillus pastorianus* 株は通常の培地に生育せず、ホップを添加せずに醸造した無ホップビールをゼラチンで固化した無ホップビール・ゼラチン培地で培養に成功したとあり、そのコロニー形成も非常に緩慢であったとしている。*Lactobacillus pastorianus* は、かつてビール混濁乳酸桿菌の代名詞的存在であったが、1950 年代以降分離培養に成功した事例は報告されておらず、その分類学的位置づけは不明となっていた<sup>16)</sup>。この事例からも、ビール混濁乳酸菌は培養困難であることが窺われる。

実際に、ビール混濁乳酸菌種のうち、特に *L. lindneri*、*L. paracollinoides* および *P. damnosus* は、乳酸菌の培養や検出に広く使用される MRS 培地のような通常の検査培地では検出困難な株が多い<sup>17, 18)</sup>。筆者らの環境調査では、当時分離された半数以上のビール混濁乳酸菌株が、MRS 培地での生育性を示さなかったという事例もあり、ビール環境に潜む乳酸菌は検出困難なものが多かったことが裏付けられていた<sup>14)</sup>。また、難培養型ビール混濁菌に対する検出培地の欠如は、製品検査で検出漏れによる製品事故につながるだけでなく、環境微生物調査によるビール製造環境の的確な改善ができない。従って、生ビール市場を世界に先駆けて開拓した日本のビール業界は姿の見えない敵に対する対抗策の構築を行う必要があった。

ビール産業において、漏れのないビール混濁乳酸菌検査培地の開発が進まない理由の一つは、新規培地開発のための微生物試料の欠如であると筆者らは考えていた。培地で培養できない難培養型ビール混濁菌は継代培養法

により維持することが難しく、供試菌株としてこれら難培養型ビール混濁菌を保有している研究機関はなく、これが難培養型ビール混濁菌検出培地開発の阻害要因となっていたのである。すなわち、難培養型ビール混濁乳酸菌の取得、継代培養、長期保存の方法が確立され、研究者が自由自在に扱えるようになれば、難培養型乳酸菌検出培地の開発が一挙に前進すると考えたわけである。そこで、難培養型ビール混濁乳酸菌株を取得し、生物試料として広く活用できるよう、その継代培養法や長期保存法の開発を進めることとした。様々な試行錯誤を重ねた結果、我々が数多く所有していた MRS 培地で生育性を示すビール混濁乳酸菌株を、ビールに繰り返し植え継ぎ高度馴化していくという方法に最終的に辿り着いた。ヒントとなったのはある先輩の体験談であった。かつてその先輩は、ビールでは旺盛な生育性を示す一方で、調査した全ての検査培地で全く生育性を示さない乳酸菌株に遭遇したことがあった。その際、100 % ビールから継代培養を始め、段階的に培地成分を増加させたビール培地で当該株を繰り返し馴化培養していったところ、ビールを含まない通常の検査培地での生育性を獲得した株を取得できたという。難培養型ビール混濁乳酸菌は、検査培地に徐々に馴化して生育性を示すよう変化するというのだ。そこで、この真逆なアプローチを採用し、ビール混濁乳酸菌株を繰り返しビール中で馴化培養することで、難培養型乳酸菌が取得できるのではないかとという仮説をたてた。しかしながら、ビールで継代培養すると、前述した通り非常に緩慢な生育しかしないため、1 回の植え継ぎに 2 週間程度要する。ホップの抗菌作用はビールの pH が 0.2 上昇すると半減すると言われていたため<sup>7-9)</sup>、継代培養を 3~4 日間隔で行えるよう、当初は pH5.0 と人工的に pH を高めたガス抜きビールで実験を継続した。様々な併せ技を試した結果、検査培地での生育性が緩慢になる変異株は取得できたものの、生育性を完全に喪失した株の取得には至らなかった。そこで、ホップの抗菌作用が理論上 16 倍となり植え継ぎ期間が長くなるものの、通常のビールの pH 域である pH4.2 のビール中で植え継いだ。その結果、徐々に培地での生育性が低減し、70 回以上植え継いだ株から検査培地で生育性を失った変異株を取得できた<sup>17)</sup>。世界で初めて取得に成功した難培養型変異株は、偶然にも体験談で先輩が検査培地への馴化に成功した *L. paracollinoides* JCM 11969<sup>T</sup> 株であったことを記憶している。最初の変異株取得まで 12 年の

月日を要したが、いったん難培養型乳酸菌取得法が確立すると、同様の取得法により検査培地上でコロニー形成能を失った変異株をさらに 3 株取得するに至った。

次に、MRS 寒天培地でコロニー形成能を失った変異株について、ビールを寒天で固化させて調製したビール寒天培地上でコロニー形成を試みた<sup>2)</sup>。その結果、これらの乳酸菌株は、非常にゆっくりであるが、ビール寒天培地上でコロニーを形成することが分かった。そこで、ビール寒天培地を用いてメンブランフィルター上で 3~4 日程度嫌気培養して形成させたマイクロコロニーを、5- (and 6-) carboxyfluorescein diacetate と propidium iodide で二重染色し、蛍光顕微鏡で観察を行った。その結果、数十から数百の細胞からなるマイクロコロニーが形成されており、マイクロコロニーを形成するほとんどの細胞が生細胞として染色された。同様の条件にてビール寒天培地上で培養しマイクロコロニーを形成させたメンブランフィルターを、MRS 寒天培地上に移行させて引き続き 18 時間嫌気培養を行った。MRS 寒天培地で継続培養後、5- (and 6-) carboxyfluorescein diacetate と propidium iodide で二重染色を行った結果、MRS 寒天培地上で培養したマイクロコロニーは、死細胞がほとんどとなり、難培養型乳酸菌株は MRS 寒天培地上で比較的急速に死滅することが示唆された。これは、ビール中で繰り返し植え継がれてビール環境に高度に適応した乳酸菌株が、MRS 培地環境に突然投げ出されて、あたかもショック死したかのようなようであった。以上のことから、難培養型ビール混濁乳酸菌は、ビール製造環境に高度に適応したがために品質検査に用いられる培地で生育しなくなったのではないかと推察した。

貴重な微生物試料が得られたため、これまで検出が困難とされてきた難培養型混濁乳酸菌の検査培地開発に取り組んだ。混濁乳酸菌の難培養性が、ビール環境への極度の適応が原因であることが示唆されたため、ビールを基礎とした培地の改良を進めたのである。その過程で、通常の検査培地に含まれる様々な栄養成分が、難培養型乳酸菌株の生育を阻害するという意外な事実が分かってきた<sup>17)</sup>。ビールのような過酷で栄養成分が少ない環境に深く適応した乳酸菌株は、過剰な栄養成分に接触すると死滅してしまうのである。これは、長期の病に伏した患者が、フルコースのディナーを食べられないのと良く似ている。そのため、ビール環境に高度に適応したビール混濁乳酸菌株には、お粥のような希薄な栄養成分を含む



培地が適しているのではないかと発想を抱いた。後の研究では、上述の過剰栄養成分への感受性に加え、難培養型ビール混濁乳酸菌にはビール中の成分に生育依存性を示す株がいること、ビールに近い低 pH を好み中性付近では生育性が低減する株のいること、検査培地の固化に使用される寒天中の夾雑成分による生育阻害を受ける株がいることなど、様々なことが明らかとなった<sup>4)</sup>。難培養型乳酸菌と一言と言っても、検査培地に生育しない理由は様々だったのである。また、難培養型乳酸菌には 30℃ 以上で培養すると生育性が大きく低減する株が多いことも分かった。ビール醸造が通常 10℃ あるいはそれ以下の温度条件で行われるため、ビール製造環境に棲息する乳酸菌は比較的低温の培養環境を好むと推察される。醸造学の教科書に「ビール混濁乳酸菌は 28℃ 以下で培養しなければならない」と記載されていると前述したが、このことを反映しているように思われる。以上のような知見をもとにして、開発した混濁乳酸菌検査培地が ABD (Advanced Beer-spoiler Detection) 培地である<sup>17)</sup>。実際に、ABD 培地の検出力を従来型の検査培地と比較した結果、これまで検出が困難とされた難培養型ビール混濁乳酸菌に対する有効な対抗策となりえることが明らかとなった (図 3)。また、ABD 培地を用いて環境調査を行ったところ、検出されたビール混濁乳酸菌株のうち、従来型検査培地では検出できないものが大半を占めることも改めて明らかとなった。以上のことから、ビール環境に潜む乳酸菌は、我々がこれまで研究材料としてきた実験室株とは性状が大きく異なることが明確に示されたことになる。

なお、余談であるが Pasteur が発見し世界で初めて分離培養に成功したビール混濁乳酸桿菌 *L. pastorianus* (van

Laer 1892) と難培養型変異株第一号となった *L. paracollinoides* は、一連の研究から同一菌種であることが明らかとなった<sup>18-20)</sup>。また、開発された ABD 培地による調査で、*L. pastorianus* / *paracollinoides* は決して稀な菌種ではなく、ビール製造環境に比較的広く分布する頻出菌種の一つであることも明らかとなった。1900 年代前半までビール混濁乳酸桿菌を代表する菌種であった *Lactobacillus pastorianus* が、1950 年代以降、発見例がなくなった原因はその難培養性にあることも示された。これらの知見から *L. pastorianus* / *paracollinoides* の分類学的な位置づけが再整理され、Pasteur から始まったビール醸造微生物学の発展に貢献することとなった。筆者らは、*L. pastorianus* 分離培養成功 125 周年となる 2017 年の米国ビール醸造学会で、“Rediscovery of *Lactobacillus pastorianus* van Laer 1892 and its unique culturability” という演題で、得られた研究成果を報告した。なお、本菌種の菌種名は、筆者らが名付けた *L. paracollinoides* が正式なものとして世界に認められている<sup>18, 20)</sup>。

## 6. 新たな微生物品質リスクの発見

生ビールの製造では、加熱殺菌の代わりに除菌フィルターを用いてビール混濁菌を除去して、瓶・缶・樽などの容器に製品ビールを充填している。これまでビール産業では、一般的な培養培地で増殖させたビール混濁菌株を使ってフィルターの除菌性能を評価してきた。しかしながら、前述した通り、一般的な市販培地で生育させたいわゆる実験室株とビール中で生育させたビール馴化株は、その挙動が大きく異なる。そこで、除菌フィルターに対する除菌性能試験にビール馴化後の混濁菌を供したところ、未馴化株と比較して除菌フィルターを 1,000 倍以上通過しやすくなる (Log reduction value: 5.71 → 2.43) 現象が見出された<sup>21)</sup>。原因解析をしたところ、ビール馴化現象に伴い、供試菌株が形態学的に矮小化しており、これがビール製造に用いられる除菌フィルターを通過しやすくなる一因であることが示された。そのためビール工場では、製品の充填工程だけでなく、その上流である発酵工程や熟成工程の微生物ゼロ化の必要性が強く認識され、漏れのない検査培地と迅速ビール混濁性判定法を活用した微生物撲滅活動が強化されていった。現在では、正確かつ漏れのないビール混濁菌の

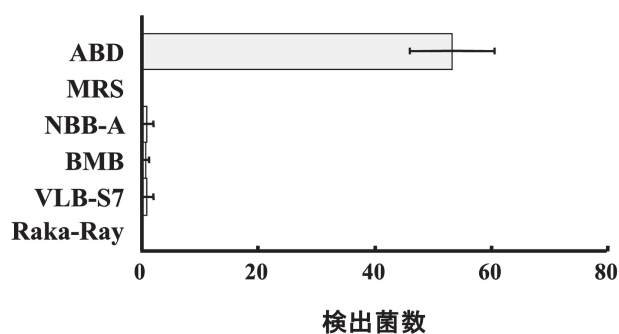


図 3 難培養型 *L. lindneri* 株に対する各検査培地の検出力比較

Figure 3 Comparison of sensitivities among the QC laboratory media in the brewing industry, using hard-to-culture *L. lindneri*



検査技術と、それらを活用した生産現場における微生物ゼロ化活動が両輪となって、品質事故のない生ビール製造が日本では実現している。

## 7. おわりに

筆者らの研究活動により、ビール混濁乳酸菌は、ビール醸造にホップが使用されるようになった1000年ほど前から、ビールという他の競合微生物が生育できない極限環境を棲息地として選り進化してきた微生物群であることが分かってきた<sup>22, 23)</sup>。実際に、異なるビール混濁菌種間で、ホップ耐性遺伝子などビール製造環境で棲息するのに有利な遺伝子の水平伝播現象が相互に発生していることが分かってきている。また、ビール製造環境でよく検出されるビール混濁性 *L. brevis* には、一般環境で検出される非混濁性 *L. brevis* とは異なる進化の道を選んだ形跡が認められる<sup>4, 23)</sup>。従って、ビール混濁乳酸菌は、ビール環境に共生し進化してきた蔵付き乳酸菌と言ってよく、ビール製造環境だけでなく居酒屋さんから回収されるビール瓶や樽からも特異的によく検出される。従って、厳格な微生物管理をしなければ、ビール工場はビール混濁乳酸菌だらけとなるのである。冒頭に、ビールは一般環境で棲息する微生物に対しては微生物安定性が高く腐敗しにくい、実際にビール工場で製造してみるとビールは日持ちしないと述べたパラドックスの解はここにある。従って、日本が世界に誇る生ビール製造は、ビール混濁菌を漏れなく正確に検出できる微生物検査技術と生産現場における弛みない混濁菌撲滅活動の両輪によって支えられていると言ってよい。

## <参考文献>

- 1) Pasteur, L., Etudes sur la bière, ses maladies, causes qui les provoquent, procédé pour la rendre inaltérable, avec une théorie nouvelle de la fermentation, Paris, Gauthier-Villars, 18-32 (1876)
- 2) Suzuki, K., 125th anniversary review: microbiological instability of beer caused by spoilage bacteria, J Inst Brew, 117, 131-155 (2012)
- 3) Back, W., Brewery, in Back W, Colour Atlas and Handbook of Beverage Biology, Nürnberg, Verlag Hans Carl, 10-112 (2005)
- 4) Suzuki, K., Chapter 7: Gram-positive spoilage bacteria in brewing, in Hill A, Brewing Microbiology, Cambridge, Elsevier Woodhead, 141-173 (2015)
- 5) Suzuki, K., et al., A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria, J Inst Brew, 112, 173-191 (2006)
- 6) Sami, M., et al., A new and rapid method for determination of beer-spoilage ability of lactobacilli, J Am Soc Brew Chem, 55, 137-140 (1997)
- 7) Simpson, W. J., Studies on the sensitivity of lactic acid bacteria to hop bitter acids, J Inst Brew, 99, 405-411 (1993)
- 8) Simpson, W. J. and Fernandez, J. L., Mechanism of resistance of lactic acid bacteria to trans-isohumulone, J Am Soc Brew Chem, 52, 9-11 (1994)
- 9) Simpson, W. J. and Smith, A. R. W., Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives, J Appl Bacteriol, 72, 327-334 (1992)
- 10) Sakamoto, K., et al., Hop resistance in the beer spoilage bacterium *Lactobacillus brevis* is mediated by the ATP-binding cassette multidrug transporter HorA, J Bacteriol, 183, 5371-5375 (2001)
- 11) Suzuki, K., et al., Genetic characterization of non-spoilage variant isolated from beer-spoilage *Lactobacillus brevis* ABBC45<sup>c</sup>, J Appl Microbiol, 96, 946-953 (2004)
- 12) Suzuki, K., et al., Isolation of hop-sensitive variant from *Lactobacillus lindneri* and identification of genetic marker for beer spoilage ability of lactic acid bacteria, Appl Environ Microbiol, 71, 5089-5097 (2005)
- 13) Iijima, K., et al., *horC* confers beer-spoilage ability on hop-sensitive *Lactobacillus brevis* ABBC45<sup>cc</sup>, J Appl Microbiol, 100, 1282-1288 (2006)
- 14) Iijima, K., et al., Isolation and identification of potential beer-spoilage *Pediococcus inopinatus* and beer-spoilage *Lactobacillus backi* strains carrying the *horA* and *horC* gene clusters, J Inst Brew, 113,

96-101 (2007)

- 15) van Laer, H., Contributions à l'histoire des ferments des hydrates de carbone, Acad Roy Belg Cl Sci Collect Octavo Mem, 47, 1-37 (1892)
- 16) Rogosa, M., Genus I, *Lactobacillus* Beijerinck 1901, in Buchanan R E and Gibbons N E, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 576-593 (1974)
- 17) Suzuki, K., et al., Development of detection medium for hard-to-culture beer spoilage lactic acid bacteria, J Appl Microbiol, 104, 1458-1470 (2008)
- 18) Suzuki, K., et al., *Lactobacillus paracollinoides* sp. nov., isolated from brewery environments, Int J Syst Evol Microbiol, 54, 115-117 (2004)
- 19) Ehrmann, M. A. and Vogel, R. F., Taxonomic note "*Lactobacillus pastorianus*" (Van Laer, 1892) a former synonym for *Lactobacillus paracollinoides*, Syst Appl Microbiol, 28, 54-56 (2005)
- 20) Hammes, W. P. and Hertel, C., Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL, in Whitman W B, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Three, New York, Springer, 465-511 (2009)
- 21) Asano, S., et al., Effect of morphological changes in beer-spoilage lactic acid bacteria on membrane filtration in breweries, J Biosci Bioeng, 104, 334-338 (2007)
- 22) Suzuki, K., Beer spoilage lactic acid bacteria, in Preedy V R and Watson R R, Beer in Health and Disease Prevention, San Diego, Elsevier Science, 150-164 (2009)
- 23) Suzuki, K., et al., Sake and beer spoilage lactic acid bacteria - A review, J Inst Brew, 114, 209-223 (2008)

## 略歴

鈴木 康司(すずき こうじ)博士(農学)

- |        |  |
|--------|--|
| 1992 年 | 東京大学大学院 農学系研究科 農芸化学専攻 修士課程修了               |
| 1992 年 | アサヒビール株式会社入社                               |
| 2017 年 | アサヒグループホールディングス株式会社<br>グループ食の安全研究所長、現在に至る。 |

## 略歴

浅野 静(あさの しずか)博士(農学)

- |        |                                    |
|--------|------------------------------------|
| 2004 年 | 東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 修士課程修了  |
| 2004 年 | アサヒビール株式会社入社                       |
| 2015 年 | アサヒビール株式会社 酒類技術研究所 主任研究員、<br>現在に至る |

# 安全性・体内動態評価に向けた Organ-on-a-chip の開発

京都大学  
白眉センター  
工学研究科マイクロエンジニアリング専攻

鳥澤 勇介



## 要 旨

マイクロデバイス技術を細胞培養・組織工学に応用することで、Organ-on-a-chip と呼ばれる新規な生体模倣デバイス技術が近年開発されている。これは、生体内の環境を模倣し、組織の立体的な構造や化学的・力学的な微小環境を忠実に再現することで臓器レベルの細胞機能の保持を行う技術である。従来の細胞培養技術では再現できなかった細胞機能が生体外で保持可能となり、新規なプラットフォームとして、病気のモデル化や創薬、安全性評価などへの応用が期待されている。特に、動物実験では評価が困難なヒト体内の応答が評価可能である点、個々の細胞や臓器の機能を個別にかつ詳細に評価可能である点、イメージングによる細胞機能の可視化が可能となる点に特徴がある。また、個々の臓器モデルを連結することで臓器間の相互作用が評価可能であり、ヒト体内動態のモデル化が可能となる特徴を有している。本稿では、Organ-on-a-chip 技術を主要な臓器デバイスを例に解説し、新たな取り組みの例として、血管網が形成可能なデバイスの開発、および骨髓機能の再現に向けたデバイスの開発に関して紹介する。

\*\*\*\*\*

## <Summary>

There is a large gap between conventional 2D cell cultures and inside the body where cells reside in 3D microenvironments that are dynamically fed by blood vessels and are comprised of a complex set of cellular, chemical, and physical cues. This physiological gap raises various challenges in basic cell biology, drug testing, and cellular therapeutics because cells in traditional dish cultures respond very differently than in the body. Recent advances in microsystems technology and tissue engineering have led to the development of biomimetic microdevices to model key functional units of organs, known as organ-on-a-chip. By mimicking natural tissue architecture and microenvironmental chemical and physical signals within microfluidic devices, this technology realizes organ-level functionality *in vitro* that cannot be recapitulated with conventional culture methods. Since the physiological microenvironments in living systems are mostly microfluidic in nature, microfluidic systems facilitate engineering of cellular microenvironments. Microfluidic systems allow for control of local chemical gradients and dynamic mechanical forces, which play important roles in organ development and function. This organ-on-a-chip technology has great potential to facilitate drug discovery and development, to model human physiology and disease, to model

Organ-on-a-chip Microdevices for Drug Efficacy  
and Toxicity Testing

YU-SUKE TORISAWA, Ph.D.  
Associate Professor  
Hakubi Center for Advanced Research and  
Department of Micro Engineering,  
Kyoto University

pharmacokinetics and pharmacodynamics, and to replace animal models for efficacy and toxicity testing. Here, I describe an overview of the organ-on-a-chip technology to recapitulate cellular microenvironments and especially focus on engineering of bone marrow-on-a-chip to recapitulate a functional hematopoietic niche as well as hematopoietic function as a novel type of approach to develop organ-on-a-chip.

## 1. はじめに

創薬や毒性試験、また医学・生物学的な研究において、生体外での細胞培養技術が欠かせないツールとなっている。しかしながら、*in vitro* 試験により得られた結果が、生体内における細胞応答とは異なる事実がしばしば報告されている。細胞培養法が確立されて以来、一般に細胞は培養皿を用いて培養されているが、プラスチック上に平面培養された培養環境は、生体内の細胞が生存する環境とは大きく異なっており、そのために細胞の示す機能や応答が生体内とは大きく異なっている。そこで、三次元培養法などの、生体内に近い環境下で培養を行うことで、より体内に類似した細胞機能が保持可能となっている<sup>1)</sup>。細胞は、周囲の微小環境によりその機能が制御されており、体外で細胞機能を維持する上で、生体内環境の再現が非常に重要となる<sup>2), 3)</sup>。このような、細胞周囲の微小環境の再構築に、マイクロエンジニアリング技術が有効なツールとなる。細胞のサイズがマイクロメートルオーダーであることから、マイクロデバイスを用いることで、微小環境の制御が容易になり、生体内に近い環境が再現可能となっている<sup>4)</sup>。特に、髪の毛ほどの小さな管の中で細胞の培養を行うマイクロ流体デバイスは、生体内環境の再現に有効となる<sup>5)</sup>。例えば、一般的な培養皿による培養法では、細胞に対する溶液の量が生体内に比べて格段に大きく、細胞の分泌によるオートクリンやパラクリンのシグナルを保持することは困難であり、細胞間の相互作用を再現することが非常に難しい。一方で、マイクロ流体デバイス内では、液量が微小であることから局所的な濃度勾配の形成や制御が可能であり、細胞の分泌による相互作用が再現可能となる<sup>6), 7)</sup>。さらに、溶液の流れを制御することで体内に近いせん断応力や間質流が再現可能となる<sup>8)</sup>。デバイスにはエラストマーであるポリジメチルシロキサン (PDMS) が主に利用されており<sup>9)</sup>、伸縮が可能である特徴から、細胞に伸展刺激を負荷可能であり、呼吸や蠕動運動などの動

的な環境が再現可能となる。このように、マイクロ流体デバイスを用いることで、組織の立体的構造や化学的な因子、力学的な環境を模倣することが可能となり、組織や臓器における細胞が示す機能の再現が可能となっている<sup>10)</sup>。

## 2. 隔膜型マイクロ流体デバイスを用いた臓器模倣デバイス：Organ-on-a-chip

Organ-on-a-chip デバイスは、その多くが隔膜型のマイクロ流体デバイスを利用している (図1)。デバイス内の薄膜の両面に上皮細胞と内皮細胞の培養を行い、溶液の流れによるせん断応力や伸展刺激の負荷により、生体内の力学的な環境の模倣を行う。以下に代表的な臓器模倣デバイスを紹介する。

### (1) 肺の模倣デバイス：Lung-on-a-chip

隔膜型のマイクロ流体デバイスを生体模倣に応用する

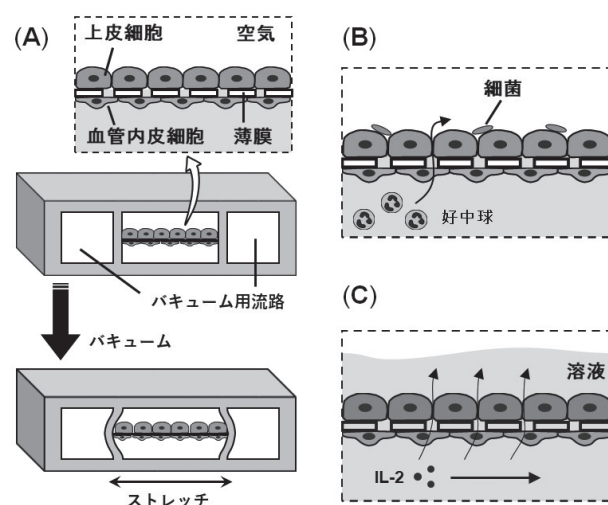


図1 隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いた Lung-on-a-chip

Figure 1 Lung-on-a-chip using a compartmentalized microfluidic device



ことで、最初の Organ-on-a-chip である Lung-on-a-chip が 2010 年に報告された<sup>11)</sup>。肺胞の構造を再現し、呼吸による力学的な環境を模倣することで、肺胞の機能が再現されている (図 1a)。デバイスは PDMS のみで出来ており、細胞外マトリクスでコートされた PDMS の多孔性薄膜の上面に肺胞上皮細胞、下面に血管内皮細胞がシート状に配置され、気液界面で培養を行うことで肺胞組織の構造が忠実に再現されている。呼吸の動きは、空気圧を利用してデバイス内の流路を変形させ、PDMS 薄膜を周期的に伸縮させることで再現されている。このデバイスにより、免疫応答のモデル化が可能となっており (図 1b)、さらにナノ粒子の毒性が評価可能となっている。呼吸に起因する力学的なシグナルがナノ粒子の細胞内への取り込みを増強し、細胞毒性を示すことが明らかとなった。従来の静止系の培養法では、このような毒性効果は認められず、Organ-on-a-chip の利用によりはじめて評価が可能となった。また、このデバイスを用いることで、肺水腫のモデル化が可能となっている (図 1c)<sup>12)</sup>。インターロイキン 2 (IL-2) を血管側の流路に加えることで、肺胞側への液漏れが認められ、呼吸による力学的な刺激の負荷が、液漏れを増大させることが明らかとなった。このデバイスを用いることで、肺水腫に対する薬剤の効果が評価可能となった。このような力学的な刺激に起因する細胞応答の変化は、マウス肺を用いた *ex vivo* による評価結果と良好に一致しており、*in vitro* 評価システムにおける力学的な環境の再現の重要性が示唆された。Organ-on-a-chip は、このような動的な環境を再現できる点に特徴を有しており、力学的なシグナルに起因する細胞機能や薬剤の効果が評価可能となる。

同様な隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いて、肺の末梢気道を模倣したデバイス Airway-on-a-chip が開発されている<sup>13)</sup>。気道上皮細胞と血管内皮細胞をデバイス内の薄膜の両面で培養を行うことで、生体内に類似した構造および運動性を示す線毛の形成が認められ、気道上皮細胞の機能が再現可能であった。このデバイスを用いることで、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) のモデル化が可能となっている。これにより、線毛の機能やサイトカインの過剰分泌などの細胞機能が評価可能となり、さらに病気に特異的なバイオマーカーや薬剤の評価が可能となっている。また、このデバイスを応用することで、喫煙の効果を細胞レベルで評価可能なデバイスが開発され

ており、喫煙の影響の経時的な変化や個々の細胞機能の変化など、動物モデルでは評価が困難な細胞機能の詳細な評価が可能となっている<sup>14)</sup>。このように、臓器レベルの細胞機能の維持に加えて、病気のモデル化の開発も進んでおり、肺の機能再現には Organ-on-a-chip 技術が非常に有効なツールとなっている。

## (2) 腸の模倣デバイス：Gut-on-a-chip

隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いて、腸の蠕動運動や力学的なシグナルの模倣を行うことで腸の機能を再現したデバイス Gut-on-a-chip が開発されている<sup>15)</sup>。腸管上皮様の癌細胞 (Caco-2) をマイクロ流体デバイス内で培養し、伸展刺激の負荷および溶液の流れによるせん断応力の負荷による力学的な環境を模倣することで、腸の絨毛様の構造の再現、および細菌との共培養システムの構築が達成されている。腸は吸収・代謝を担う臓器であり、中でも腸内細菌は、代謝機能や免疫応答、様々な病気との関連性が報告されており、その存在が欠かせない。しかしながら、一般的な培養手法では、腸内細菌との共培養が困難となっている。Organ-on-a-chip を用いて力学的な環境の模倣を行うことで、Caco-2 細胞が三次元の腸絨毛に似た構造を形成し、それに伴い腸内細菌との共培養が可能となっている。このデバイスにより、病原性の細菌に対する薬剤評価のモデル化や力学的な刺激の負荷に起因する細菌の異常増殖モデル、免疫応答における細菌の機能評価など、これまでには評価が困難であった様々なモデルが *in vitro* で実現可能となっている。本システムは癌細胞株を用いている点に課題を有しているが、最近ヒトの腸組織より回収した幹細胞を利用することで、Small intestine-on-a-chip が開発されている<sup>16)</sup>。ヒトの腸陰窩から回収した細胞をマイクロ流体デバイス内で培養を行うことで、腸の絨毛構造を再現可能としている。ヒト体内の小腸機能を再現できる可能性を有しており、薬剤評価等への今後の応用が期待される。本デバイスにおいても、血管内皮細胞との共培養による組織構造の模倣に加えて、溶液の流れによる力学的な環境の模倣により絨毛構造の形成が可能となっている。このように、腸においても組織の立体的な構造の模倣に加えて力学的な環境の再現の重要性が示唆されている。

## (3) 肝臓の模倣デバイス：Liver-on-a-chip

隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いて肝細胞と非実

質細胞の共培養を行うことで、Liver-on-a-chip が開発されている<sup>17)</sup>。デバイス内の多孔性薄膜の上側の流路内に血管内皮細胞とクッパー細胞、下側の流路内に肝細胞および肝星細胞の培養を行うことで、肝類洞を模倣したデバイスが開発されている。このデバイスにより、流れによるせん断応力刺激が肝細胞増殖因子の分泌および酵素の活性を向上させること、さらに共培養がアルブミン分泌および好中球のリクルートを増強することが明らかとなった。このように、肝細胞と共に周囲の細胞の培養を行い、肝類洞の微小環境の模倣を行うことで、より生体内に類似した細胞機能が保持可能となっている。

また、3次元培養とマイクロ流体デバイスを組み合わせたデバイスが開発されている<sup>18)</sup>。肝臓細胞のスフェロイドをマイクロ流体内でゲルを用いて固定化を行うことで、マイクロデバイス内で3次元培養を実現し、溶液を灌流しながら培養を行うことで、肝臓の機能が1か月程度維持可能となっている。また、コラーゲンサンドイッチ法をマイクロ流体デバイス内に組み込むことで、肝臓機能の維持を可能とするマイクロ流体デバイスが開発されており、溶液の流れによる刺激によって肝細胞のコラーゲン分泌量が増加し、それに伴って肝機能が向上することが示されている。このように、溶液の流れによる力学的な環境の再現が、肝細胞の機能維持に重要であることが示唆されており、肝細胞の培養におけるマイクロ流体デバイスの有効性が示唆されている。創薬において、臨床試験中止や承認の取り消しなどが起こる原因の多くに肝毒性が挙げられる。その多くは動物実験による結果とヒトでの効果との違いによるためであり、ヒトの肝臓機能を再現可能な評価モデルの構築が非常に重要となる。

#### (4) 腎臓の模倣デバイス Kidney-on-a-chip

隔膜型のマイクロ流体デバイスを利用して、近位尿細管の機能を模倣したデバイスが開発されている<sup>19)</sup>。尿細管において、上皮細胞は常に溶液の流れによるせん断応力と浸透圧勾配に晒されている。この環境がデバイスの利用により再現可能となっている。デバイス内の多孔性薄膜上に近位尿細管上皮細胞の培養を行うことで、薄膜の細胞側を内腔側、下側を間質側と見立て、細胞側にのみ生体内に類似したせん断応力を負荷することで、近位尿細管の機能が再現されている。このデバイスにより、通常の培養手法に比べて細胞極性、および一次線毛形成

の促進が認められ、アルブミンの輸送やグルコースの再吸収の増加、さらに生体内に類似した薬剤の毒性効果が再現可能となっている。また、コラーゲンゲルによる3次元培養を用いたマイクロ流体デバイスが開発されている<sup>20)</sup>。ゲルを用いて作製した円柱状のマイクロ流路内に近位尿細管上皮細胞を培養することで3次元のチューブ構造を形成し、せん断応力を負荷した環境下で培養を行うことで、生体内に類似した上皮細胞の機能を4週間以上に渡り維持可能となり、薬剤の腎毒性やクリアランスの評価が可能となっている。

最近、隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いた糸球体モデルが開発されている<sup>21)</sup>。ヒト多能性幹細胞 (iPS 細胞) より誘導した糸球体上皮細胞と糸球体内皮細胞を、多孔性薄膜を介して共培養を行い、生体内に類似したせん断応力刺激および張力刺激を負荷することにより、糸球体のクリアランス機能の保持および薬剤毒性の評価が可能となっている。このように、腎臓機能においても力学的な環境の模倣が非常に重要となっており、生体内環境を再現することで、生体内に類似した細胞形態・細胞機能が保持でき、ヒト体内を反映した薬剤評価が可能となっている。

以上のように、隔膜型のマイクロ流体デバイスを用いた Organ-on-a-chip モデルが多数開発されており、上皮と内皮の組織構造の模倣に加えて、動的な環境を再現可能であることに特徴を有している。このように、生体内環境を忠実に模倣することで、組織レベルの細胞機能が再現でき、臓器の一部の機能が再現可能となっている。

### 3. ティッシュエンジニアリング技術を用いた骨髄模倣デバイス：Bone marrow-on-a-chip

生体内の微小環境を体外で再構築する上述のアプローチに対し、ティッシュエンジニアリング技術を利用して生体内で臓器の再生を行い、体外に取り出して培養を行う培養手法が開発されている (図2)。体内での臓器の再生を利用してデバイス内に臓器組織の構築を行うことで、より複雑な微小環境の保持および細胞機能の保持が可能となっている。

#### (1) 生体内での骨髄組織の構築

骨髄はヒトでの唯一の造血器官であり、血液の生成・

維持を担う臓器である。骨髓内では、日々血液細胞が生産され、その増殖や分化機能は骨髓の微小環境により制御されている。そのため、血液細胞の機能を評価する上で骨髓環境の再現が必要不可欠となる<sup>22)</sup>。造血幹細胞の増殖を目的として、また血小板などの特定の血液細胞の作製を目的として、骨髓の一部の環境を模倣した様々な *in vitro* システムが開発されている<sup>23)</sup>。しかしながら、骨髓の構造の複雑さ故に生体外で骨髓の環境や機能を再現可能なシステムは未だに実現しておらず、血液や骨髓に関する研究および薬剤評価には、動物モデルが広く利用されている。そこで、ティッシュエンジニアリング技術を応用して新規なシステムの構築を試みた<sup>24)</sup>。骨の再生を利用することで、生体内では骨髓を含む骨の組織を作製することが可能である。骨を細かく砕き、ミネラルを取り除いた骨粉 (demineralized bone powder; DBP) を体内に埋め込むことで、骨髓組織が作製可能であることが知られている。この技術を応用し、PDMS で作製したデバイス内に DBP を骨形成タンパク質と共にコラーゲンゲルに包埋することで固定化し、マウス皮下に埋め込むことでデバイス内に骨髓組織の作製を行った (図 2a)。デバイスは片側が閉じたウェル状の構造をしており、皮下の筋肉組織の上に固定化することで、骨形成を誘導する材料がマウス筋肉組織にのみ接触する構造をしている。デバイスを皮下に移植後、筋肉側から徐々に骨の形成が開始し、骨の再構成と共に血液細胞が認められ、8 週間後には材料全体に骨髓を含む骨の組織の形成が認められた (図 2b)。デバイス内に形成した骨髓組織をマウスの骨髓と比較すると、組織構造、血液細胞およびストローマ細胞の分布は非常に類似

しており、マウス骨髓とほぼ同等な骨髓組織が作製可能であった。また、デバイスを利用せずに、材料のみをマウス皮下に移植した場合、形成する骨髓組織はその多くを脂肪に占有される結果となった。従って、デバイスを利用することで骨髓の形成が促進し、マウスの骨髓とほぼ同等な組織がはじめて作製可能となった。このように、デバイスを用いた生体内のティッシュエンジニアリングにより、生体内では新たな骨髓組織が異所に作製可能であり、デバイスを取り出すことで、形成した組織をそのまま取り出すことが可能となる。

生体内で骨髓環境を作製する試みは、これまでにいくつか報告があり、ヒトの骨髓環境に類似した組織の形成が可能となっている。骨髓由来のヒト間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) をマトリゲルに包埋して免疫不全マウスの皮下に移植を行うことで、MSC が骨髓組織を形成可能であることが報告されている<sup>25)</sup>。この骨髓組織は、ヒトの造血幹細胞や白血病細胞の生着率を向上し、その機能が維持可能となっている。従って、ヒト MSC を用いて骨髓組織を作製することで、ヒト骨髓に類似した環境を有する組織が作製可能となっている。このように、免疫不全マウスとヒト MSC 細胞を用いることで、ヒトの骨髓に類似した環境を作製可能であり、ヒトの血液細胞を移植することで、ヒトの骨髓機能を保持した骨髓組織が作製できる可能性を有している。また MSC が骨髓環境の形成を誘導しており、骨髓の環境を再構築する上で、MSC の重要性が示唆される。このように、デバイスと材料を用いることで、生体内での臓器再生を利用した新規な Organ-on-a-chip システム開発の可能性が示唆された。

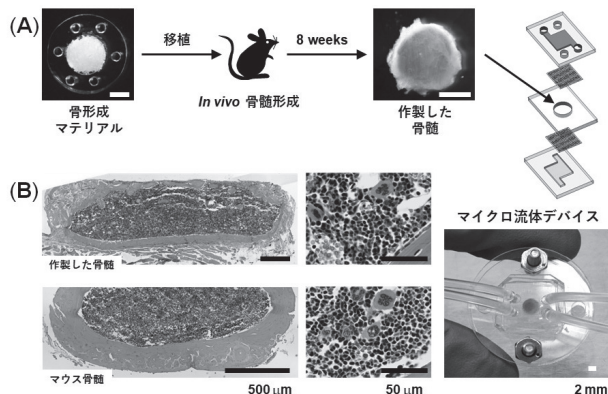


図 2 生体内の臓器形成を用いた Bone marrow-on-a-chip<sup>24)</sup>

Figure 2 Bone marrow-on-a-chip using *in vivo* tissue engineering.

## (2) マイクロ流体デバイスによる骨髓機能の維持

これまでに骨髓の環境や機能を生体外で再現可能なシステムは未だに実現しておらず、現段階では *in vitro* で骨髓環境を再構築することは極めて困難である。そこで、Proof of Concept の取り組みとして、生体内で作製した骨髓組織の体外での維持を試みた (図 2)。マウス皮下に移植後 8 週間のデバイスを皮下から取り出し、マイクロ流体デバイス内で培養液を灌流しながら培養を行うことで、骨髓機能の維持を行った。デバイスを用いて骨髓組織の作製を行うことで、形成する骨髓組織のサイズと形状を制御可能であり、比較的薄い 1 mm 程度の骨髓組織を作製することで、体外において細胞機能の維持が可



能であった。開発した骨髓チップ (Bone marrow-on-a-chip) によるマイクロ流体デバイス内の灌流培養により、作製した骨髓組織内の造血幹細胞および前駆細胞を2週間程度維持が可能であり、流出液中への継続的な血液細胞の生成が認められた<sup>26)</sup>。そこで、現在広く利用されている骨髓のストローマ細胞をフィーダーとして利用する培養皿による培養法を用い、比較を行うことでシステムの評価を行った。その結果、フィーダー上での平面培養では、培養開始後数日で造血前駆細胞の著しい増加が認められ、同時に造血幹細胞の割合の減少が認められた。従って、通常の培養手法では、造血幹細胞が分化を開始しており、幹細胞としての機能を維持することが困難であった。一方で、骨髓チップでは、造血幹細胞、前駆細胞共にほとんど割合に変化が認められず、生体内と同様な状態を維持していた。さらに、チップで培養後の骨髓組織から採取した血液細胞を放射線照射したマウスに移植した結果、マウスに生着して成熟した血液細胞を形成し、その生着率は通常のマウス骨髓を移植した場合とほぼ同等であった。従って、骨髓チップにより造血幹細胞の機能が維持されており、機能的な骨髓環境を維持可能であることが示唆された。また、灌流によるチップからの流出液に含まれる血液細胞の数は、時間の経過と共に増加しており、骨髓チップ内の骨髓組織が血液細胞の生成を続けていることがわかる。従って、骨髓チップ内の骨髓組織は生体内に類似した血液細胞の割合を維持し、生成した血液細胞がチップの外へと流れ出ていることが示唆される。通常の培養法では、培養空間が限られており、細胞が増殖を続けることは難しく、細胞密度や微小環境が絶えず変化を続けているのに対し、マイクロ流体デバイスによる培養では、生成した細胞は外へと流出することができ、チップ内は一定の環境を保つことが可能となる。この点からもマイクロ流体デバイスを用いた Organ-on-a-chip により、生体内に近い環境が再現可能となる。

### (3) 骨髓チップを用いた毒性評価

骨髓の環境を体外で維持することが、実際の薬剤評価や毒性試験に有効であるのか評価を行うために、骨髓チップを用いて放射線毒性の評価を行った<sup>24, 26)</sup>。放射線毒性の対策となる薬剤等の開発が急務である一方で、ヒトでの毒性や薬剤の効果を評価可能なモデルが存在せず、評価システムの構築が必要不可欠な状況である。そ

こで、生体外で放射線の毒性が評価可能であるのか検討を行った。まず、マウスの細胞を用いて、骨髓環境の存在しない一般的なストローマ細胞を用いた平面培養により評価を行った結果、放射線の毒性および薬剤の効果がマウス体内とは大きく異なり、評価が困難であった。一方で、骨髓チップを用いた場合、マウス体内における結果と非常に近い結果が得られた<sup>24)</sup>。放射線照射後の骨髓チップ内の造血幹細胞および前駆細胞の割合は、*in vivo* におけるマウス骨髓内の割合と非常に近く、生体内の放射線毒性が評価可能であった。また、放射線照射後に薬剤を投与することで、チップ内の造血細胞の増加が認められ、薬剤の効果が評価可能であった。さらに、骨髓チップからの流出液中に生成する血液細胞の割合を評価することで、放射線の毒性や薬剤の効果が経時的に評価可能であった<sup>26)</sup>。血液細胞への毒性や薬剤の効果を、チップからの流出液を連続的にサンプリングして評価を行うことで、経時的にモニターすることが可能となった。このように、骨髓の毒性評価および薬剤評価において、骨髓環境の保持が非常に重要であることが示唆され、骨髓の環境を保持することで、*in vitro* においても生体内に類似した組織レベルの細胞応答が評価可能となる。今後、ヒトの骨髓環境を模倣したデバイスの開発により、ヒト体内の応答を再現した *in vitro* 放射線毒性モデルおよび薬剤評価システムの開発が期待される。

## 4. 3D 血管網を形成可能なマイクロ流体デバイス

組織の立体的な構造を再現可能な三次元培養法は、細胞の機能保持や幹細胞の培養に有効な手法となっている。しかしながら、現存の三次元培養手法は、細胞塊や組織に酸素や栄養を供給可能な血管構造が欠けており、細胞凝集塊の内部へのアクセスが困難となっている。従って、オルガノイドなどの細胞凝集塊の内部にアクセス可能な血管網やチューブ構造が導入可能となれば、その用途は幅広く、創薬や毒性試験などへの貢献が期待できる。マイクロ流体デバイス内でハイドロゲルを用いて三次元的に培養を行うことで、管腔構造を有する灌流可能な血管網の構築が可能となっている<sup>27)</sup>。血管新生を誘導することが知られている肺線維芽細胞などの間質細胞をマイクロ流体デバイス内で血管内皮細胞と共に培養を行うことで、間質細胞の分泌シグナルの濃度勾配に起因して、血



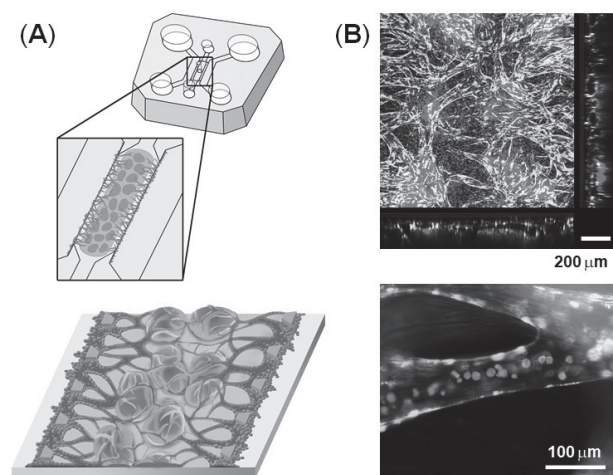


図3 マイクロ流体デバイスを用いた血管網を備えた三次元培養法<sup>29)</sup>

Figure 3 Microfluidic device to engineer a vascularized 3D tissue-on-a-chip.

管内皮細胞が間質細胞に向かって血管新生を開始し、ゲルの中に管腔構造を有する血管網を形成する。形成した血管網は、デバイス内の流路と繋がっており、流路内に薬剤や細胞を流すことで、血管網内に灌流が可能となる。このシステムを応用することで、三次元の細胞凝集塊への血管網の導入が可能となっている (図3)<sup>28, 29)</sup>。細胞凝集塊内に、血管内皮細胞と間質細胞を混ぜておくことで、血管網の形成が誘導でき、細胞凝集塊の外側の血管と内側の血管が接合することにより、灌流可能な血管網が導入可能である。これにより、細胞凝集塊の内部に溶液が灌流可能であり、流路内に薬剤や細胞を添加することで、細胞凝集塊の内部に導入することが可能となる (図3b)。また、血管網を介した細胞間の相互作用が評価可能となっており、血管を介した細胞の走化性など、体内に類似したモデルが構築可能となっている。臓器間の相互作用や細胞の走化性などは、血管を介して行われており、血管構造の構築が必要不可欠となる。今後、iPS細胞由来のオルガノイドなどに血管網やチューブ構造を構築することで、より生体内を模倣したモデルの構築が期待される<sup>30)</sup>。

## 5. まとめ

体内の微小環境を再現することで臓器レベルの細胞機能の保持を可能とする Organ-on-a-chip 技術は、動物実験に替わる新規な評価手法としての利用が期待されてい

る。ヒト細胞を用いて、臓器レベルの細胞機能を再現することで、ヒト体内における効果を反映した、より信頼性の高い評価システムを実現可能とする。また、病気のモデル化やイメージングによる細胞機能の可視化を可能とする特徴を有している。さらに、複数の臓器モデルを一枚のチップ上に集積化することで、臓器間の相互作用が評価可能であり、ヒト体内の薬物動態を再現できる可能性を有しており、創薬や安全性試験における効率を飛躍的に向上でき、動物実験の代替法となり得る。しかしながら、Organ-on-a-chip は比較的に新しい技術であり、克服すべき課題も多いのが現状である。例えば、広く利用されているデバイスの素材である PDMS は、疎水性の低分子化合物を吸収してしまうため、ある種の薬剤評価には適しておらず、新規なマテリアルの開発が必要である。また、細胞の種類によって培養液が異なるため、今後は複数の臓器を配列する上で、共通の培養液や代替血液の開発が必要である。さらに、体内の薬理動態を再現する上で、各臓器の配列方法など、*in silico* によるモデル化が重要となる。今後、細胞培養技術の進歩に加えて、iPS細胞技術の導入により、様々な臓器の細胞を利用可能となり、病気のモデル化や個人に由来する細胞を利用した個別診断など、Organ-on-a-chip の更なる応用が期待される。将来、個々の技術の進歩により Organ-on-a-chip が動物実験の代替法として利用されることが切望される。

## <参考文献>

- 1) Pampaloni F., *et al.*, The third dimension bridges the gap between cell culture and liver tissue. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8, 839-845 (2007).
- 2) Morrison S. J., Spradling A.C., Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell*, 132, 598-611 (2008).
- 3) Quail D.F., Joyce J.A., Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat. Med.*, 19, 1423-1437 (2013).
- 4) Underhill G.H., *et al.*, Bioengineering methods for analysis of cells in vitro. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 28, 385-410 (2012).

- 5) Paguirigan A. L., Beebe D.J., From the cellular perspective: exploring differences in the cellular baseline in macroscale and microfluidic cultures. *Integr. Biol.*, 1, 182-195 (2009).
- 6) Helmlinger G., *et al.*, Formation of endothelial cell networks. *Nature*, 405, 139-141 (2000).
- 7) Torisawa Y., *et al.*, Microfluidic platform for chemotaxis in gradients formed by CXCL12 source-sink cells. *Integr. Biol.*, 2, 680-686 (2010).
- 8) Shemesh J., *et al.*, Flow-induced stress on adherent cells in microfluidic devices. *Lab Chip*, 15, 4114-4127 (2015).
- 9) McDonald J. C., *et al.*, Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis*, 21, 27-40 (2000).
- 10) Bhatia S. N., Ingber D. E., Microfluidic organs-on-chips. *Nat. Biotechnol.*, 32, 760-772 (2014).
- 11) Huh D., *et al.*, Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*, 328, 1662-1668 (2010).
- 12) Huh D., *et al.*, A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. *Sci. Transl. Med.*, 4, 159ra147 (2012).
- 13) Benam K. H., *et al.*, Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses in vitro. *Nat. Methods*, 13, 151-157 (2016).
- 14) Benam K. H., *et al.*, Matched-comparative modeling of normal and diseased human airway responses using a microengineered breathing lung chip. *Cell Syst.*, 3, 456-466 (2016).
- 15) Kim H. J., *et al.*, Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113, E7-E15 (2016).
- 16) Kasendra M., *et al.*, Development of a primary human Small intestine-on-a-chip using biopsy-derived organoids. *Sci. Rep.*, 8, 2871 (2018).
- 17) Du Y., *et al.*, Mimicking liver sinusoidal structures and functions using a 3D-configured microfluidic chip. *Lab Chip*, 17, 782-794 (2017).
- 18) Bhise N. S., *et al.*, A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids. *Biofabrication*, 12, 014101 (2016).
- 19) Jang K. J., *et al.*, Human kidney proximal tubule-on-a-chip for drug transport and nephrotoxicity assessment. *Integr. Biol.*, 5, 1119-1129 (2013).
- 20) Weber E. J., *et al.*, Development of a microphysiological model of human kidney proximal tubule function. *Kidney Int.*, 90, 627-637 (2016).
- 21) Musah S., *et al.*, Mature induced-pluripotent-stem-cell-derived human podocytes reconstitute kidney glomerular-capillary-wall function on a chip. *Nat. Biomed. Eng.*, 1, 0069 (2017).
- 22) Morrison S.J., Scadden D. T., The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*, 505, 327-334 (2014).
- 23) Choi J. S., Mahadik B. P., Harley B. A., Engineering the hematopoietic stem cell niche: Frontiers in biomaterial science. *Biotechnol. J.*, 10, 1529-1545 (2015).
- 24) Torisawa Y., *et al.*, Bone marrow-on-a-chip replicates hematopoietic niche physiology in vitro. *Nat. Methods*, 11, 663-669 (2014).
- 25) Reinisch A., *et al.*, A humanized bone marrow ossicle xenotransplantation model enables improved engraftment of healthy and leukemic human hematopoietic cells. *Nat. Med.*, 22, 812-821 (2016).
- 26) Torisawa Y., *et al.*, Modeling Hematopoiesis and Responses to Radiation Countermeasures in a Bone Marrow-on-a-Chip. *Tissue Eng. Part C Methods*, 22, 509-515.
- 27) Kim S., Lee H., Chung M., Jeon N. L., Engineering of functional, perfusable 3D microvascular networks on a chip. *Lab Chip*, 13, 1489-1500 (2013).
- 28) Nashimoto Y., *et al.*, Integrating perfusable vascular networks with a three-dimensional tissue in a microfluidic device. *Integr. Biol.*, 9, 506-518 (2017).
- 29) Sano E., *et al.*, Engineering of vascularized 3D cell constructs to model cellular interactions through a vascular network. *Biomicrofluidics*, 12, 042204 (2018).
- 30) Takebe T., Zhang B., Radisic M., Synergistic engineering: organoids meet organs-on-a-chip. *Cell Stem Cell*, 21, 297-300 (2017).

## 略歴

---

鳥澤 勇介(とりさわ ゆうすけ)博士(学術)

- 2006 年 東北大学大学院環境科学研究科 博士課程修了(博士(学術))
- 2006 年 ミシガン大学 生体医工学科 ポストドクトラルフェロー
- 2009 年 ハーバード大学 ヴィース研究所 リサーチアソシエイト
- 2015 年 京都大学 白眉センター 特定准教授

## <研究所紹介>

# 株式会社 明治 「明治イノベーションセンター」

株式会社 明治  
研究本部研究戦略統括部研究管理部専任部長

中村 博文



### 要 旨

株式会社 明治は、2017年11月、2拠点であった研究所を集約し、商品開発研究、基盤研究、生産技術研究、品質科学研究などのすべての研究開発機能を統合した「明治イノベーションセンター」を東京都八王子市に設立しました。

今後、明治グループがさらに成長していくためには、プロバイオティクスを応用したヨーグルトや健康機能を訴求した「チョコレート効果」でお客さまに新たな価値を提示したようなイノベーションが必要です。明治イノベーションセンターでは、組織の枠を超えて異なる専門性を持った研究者が密に連携し、互いの知恵を融合させることで、私たちにしかできないイノベーションを連続的に創出していくことをスローガンに掲げています。

さらに、研究開発を一層スピーディーに進めるため、明治イノベーションセンターを核としたオープンイノベーションを推進しています。フランスのパスツール研究所をはじめ国内外の有力な企業や研究機関とネットワークを築き、私たちが強みを持つ「乳」「カカオ」「乳酸菌」「栄養設計」の4つの領域において、お客さまの「健康な食生活」に貢献できる価値創造に取り組んでいます。

\*\*\*\*\*

### <Summary>

In November 2017, Meiji consolidated two research laboratories and integrated all R&D activities such as Product Development, Food Science Research, Production Technology Research and Food Quality Research to establish the “Meiji Innovation Center” in Hachioji, Tokyo.

This innovation center will bring innovations and new value to customers, by developing new products with health benefits in the same way as the current probiotic yogurts and “Meiji Chocolate Kouka”, in order to achieve further growth. At the Meiji Innovation Center, researchers with many different specialties work closely together to combine their unique expertise and transcend organizational boundaries. Meiji will fulfill its mission by continuing to create innovative products that are uniquely Meiji.

In addition, Meiji Innovation Center will be a core for open innovation to accelerate R&D activities. Meiji will create a network with leading companies and research institutes at home and abroad including the Pasteur Institute in France. With Meiji’s strength in “Dairy”, “Lactic acid bacteria”, “Cocoa” and “Nutrition”, this network will enhance their value creation and contribute to customers’ healthy dietary lifestyle.

< Research Institute of ILSI Japan Members >  
Meiji Co., Ltd. “Meiji Innovation Center”

HIROFUMI NAKAMURA  
R&D Management Department  
R&D Total Oversight Department  
R&D Division  
Meiji Co., Ltd.



## 1. 株式会社 明治について

株式会社 明治は、明治ホールディングス株式会社の食品事業を担う事業会社です。明治グループは2016年10月に創業100周年を迎えましたが、100年を超える歴史の中で常に社会情勢やお客さまのニーズの変化を捉え、時代の先を行く価値を創造し、数々の画期的な商品により市場を創出してきました。

当社では、牛乳・乳製品、菓子、粉ミルク、スポーツ栄養食品、高齢者向け食品、流動食など多岐にわたる商品を、赤ちゃんからお年寄りまであらゆる世代のお客さまに、さまざまな場面で提供しています。また、「乳」「乳酸菌」「カカオ」「栄養設計」の4つの領域は、当社が強みをもつ研究分野です。例えば、乳酸菌の領域では、6,000株を超える乳酸菌を保有し、乳酸菌が人の健康に及ぼす影響についての研究が蓄積され、その基盤研究に基づく独自性の高い商品を開発してきました。このように当社では、「食と健康のプロフェッショナル」として、常に一步先を行く価値を提案し、お客さまの「健康な食生活」に貢献し続けることを理念としています。

明治グループでは、次なる成長ステージを目指して、「明治グループ2026ビジョン『Beyond meiji ～想像以上の明治へ～』」を策定しました。明治グループ100年で培った強みに、新たな技術や知見を取り入れて、「食と健康」で一步先を行く価値を創造し、日本、世界で成長し続けることを目指しております。

## 2. 明治イノベーションセンター（MIC）の概要

明治グループ創業100周年を機に、株式会社 明治の新研究所を東京都八王子市に建設することが決定されました。当社の研究開発体制は、神奈川県小田原市と埼玉県鶴ヶ島市の2拠点体制で、小田原では乳・乳製品を中心に、鶴ヶ島では菓子を中心に研究開発を行っていました。2017年11月、これらの拠点を集約し、商品開発研究、基盤研究、品質科学研究など、当社が保有する全ての研究開発機能を統合した「明治イノベーションセンター」を開設しました（図1）。

明治イノベーションセンターでは、『食イノベーション ～明治じゃないとできないことを～』をスローガンとして掲げています。明治のイノベーションを担う中核

拠点として、研究開発に関する社内外の知見・技術を結集して「知」の融合を図り、お客さまとの連携・対話を深めて、新たな価値を共創していきます。また、世界市場を視野に入れた商品価値を創造・実現し、世界の食品業界の中でも優位性・影響力を有する研究所を目指しています（図2）。

このようなビジョンの実現を目指して、①アイデアが連続的なイノベーションに結実する研究所、②研究員の「知」が融合する研究所、③外部の「知」とコミュニケーション／コラボレートする研究所、④働きがいのある／働きやすい研究所、⑤コンパクト・フレキシブル・サステナブルな研究所、⑥災害に強く、地域・環境と共生する研究所、として設計・建設されました。

研究員の「知」の融合を目指すために、①フロアを見渡せるオープンなレイアウト、②組織の枠にこだわらず、技術領域で商品開発研究と基盤研究が融合しやすい配置、③1棟かつ低層階で、フロア中央に配置されたミーティング・動線機能を集約したコミュニケーションエリア、を特長とするデザインとなっています（図3）。

このような特長あるデザインにより、第31回「日経ニューオフィス賞」（主催：日本経済新聞社／一般社団法人ニューオフィス推進協会 後援：経済産業省／日本商工会議所）において「クリエイティブ・オフィス賞」を受賞しました。

所在地：東京都八王子市七国一丁目29番1号

敷地面積：40,452m<sup>2</sup>

延床面積：36,829m<sup>2</sup>

構造規模：研究棟は、鉄骨造および鉄筋コンクリート造、基礎免震構造、地上5階

パイロットプラント棟は、鉄骨造および鉄筋コンクリート造、耐震構造、地上3階



図1 「明治イノベーションセンター」外観  
(左：パイロットプラント棟、右：研究棟)

Figure 1 Appearance of "Meiji Innovation Center"  
(left: Pilot Plant, right: Laboratories)

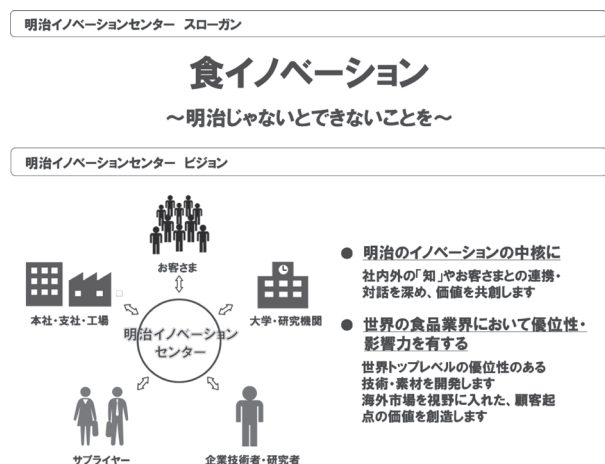


図2 明治イノベーションセンターのスローガンとビジョン

Figure 2 Slogan and vision of Meiji Innovation Center



図3 研究棟フロア中央の「コミュニケーションエリア」

Figure 3 “Communication area” in the center of the laboratory floor

### 3. 研究開発の取り組み

明治イノベーションセンターでは、主に商品開発研究、基盤研究、品質科学研究に取り組んでいます。

#### (1) 商品開発研究

商品開発研究では、牛乳・乳製品・菓子を中心とした食品に関する基礎的研究を行うとともに、お客さまのライフスタイルの動向に応じて、健康価値や食のおいしさ・楽しさを追及した商品の研究開発に取り組んでいます。現在、牛乳・飲料、ヨーグルト、チョコレート、栄養食品、チーズ、乳化食品、調理食品、フローズンデザートなど、幅広い食品に関する研究開発を行っています。また、栄養上、特別な設計を必要とする乳幼児やご

高齢の方などを対象とした食品の開発にも取り組んでいます。

#### (2) 基盤研究

基盤研究では世界トップレベルの研究を目指し、乳酸菌研究、栄養研究、機能評価研究、生産技術研究など健康に関する基盤技術の構築およびプロセスイノベーションを推進しています。

乳酸菌研究では、乳酸菌の機能性、腸内環境と健康の関連性を科学的に実証し、得られた知見・データを新たな機能性食品の開発につなげるための基盤技術研究を行っています。乳酸菌の栄養生理学的効能および生体調節機能を科学的に実証するとともに、それを応用したプロ・プレバイオティクスの開発とその特定保健用食品や機能性表示食品の表示に向けたヒト評価試験や安全性評価を行っています。

栄養研究では、各種栄養成分が消化管の機能や発達、腸内菌叢の改善、あるいは生体の生理・免疫機能に及ぼす影響について研究しています。

機能評価研究では、乳やカカオ由来の食品素材の健康機能に関する研究をしています。

生産技術研究では、原料開発、製造技術開発、製造プロセス設計、装置開発、容器包装技術開発など、効率的な生産方法と工場での実生産に必要な生産技術に関する研究開発を行っています。

#### (3) 品質科学研究

品質科学研究では、世界トップレベルの分析技術や品質評価技術を開発・導入し、商品とその原材料の品質を維持・向上させるための研究に取り組んでいます。食品の成分、物性などの理化学分析、食品のおいしさの評価、衛生微生物学や食の安全性など品質とその評価に関する技術開発、検査、調査、情報発信などを行っています。また、迅速・簡易な分析法の開発、工場における品質検査精度の向上や技術系社員の教育にも取り組んでいます。

上記 (1) ～ (3) の研究開発を組織横断的に協働して推進し、健康を軸とした新たな価値創造にチャレンジしています。

## 4. 研究開発トピックス

### (1) 吸収性に優れた乳たんぱく質飲料

健康志向の高まりにより運動をするお客さまが増えて、素早く手軽にプロテインを摂取したいというニーズが高まっています。当社では、酸性領域で凝固する乳たんぱく質の安定化技術を開発し、高濃度の乳たんぱく質を含有、スッキリと飲みやすい酸性乳飲料「(ザバス) ミルクプロテイン」を開発しました (図4)。



図4 「(ザバス) ミルクプロテイン」

Figure 4 “SAVAS Milk protein”

一般的な乳飲料でたんぱく質を摂取した場合、酸性である胃内でたんぱく質が凝固し、体内にゆっくりと吸収されます。一方、酸性領域で安定化された乳たんぱく質(「速攻吸収ミルクプロテイン」)は、胃内で凝固せず体内へ速く吸収されます。酸性乳飲料中の乳たんぱく質の吸収が速く、骨格筋合成が促進されることも科学的に確認されました。

この技術は、「吸収性に優れ、カラダ作りに最適な革新的乳たんぱく質飲料の開発研究」として日本農芸化学会の平成31年度農芸化学技術賞を受賞することになりました。

また、帯広畜産大学と当社の共同研究により、ミルクプロテイン飲料を摂取すると、知的作業効率が向上することを確認しました。ミルクプロテイン飲料または糖質飲料を摂取していただき、その前後の内田クレペリン検査(簡単な計算課題)の正答数を測定し、知的作業効率を評価しました。その結果、ミルクプロテイン飲料摂取時は糖質飲料摂取時と比較して、知的作業効率が向上することがわかりました。

### (2) 免疫力を高める 1073R-1 乳酸菌

免疫力を高めるヨーグルトの開発を目指し、当社が保

有する乳酸菌の中から、ナチュラルキラー(NK)細胞を活性化させる多糖体を産生する乳酸菌 *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* OLL1073R-1 (以下 OLL1073R-1 株) を見出しました。

OLL1073R-1 株で発酵したヨーグルトの継続摂取により、NK 活性が低い高齢者の NK 活性を高め、風邪やインフルエンザにかかるリスクを減少させるばかりでなく、インフルエンザワクチンの接種で作られる抗体を増やす可能性も示されました。さらに、「夏バテ」の代表的な症状である全身のだるさや疲労感を軽減することも示唆されました。

これら一連の研究より、OLL1073R-1 株で発酵したヨーグルトの摂取は体調管理に有用であり、人々の生活の質の向上に寄与する可能性が示されました。これらの成果は、平成25年度農林水産大臣賞、さらに「免疫調節作用に着目したヨーグルトの開発と生理効果の応用展開」として、平成29年度日本栄養・食糧学会技術賞を受賞しました。

### (3) プリン体の吸収を低減し、尿酸値上昇を抑制する PA-3 乳酸菌

プリン体を摂取すると尿酸値が上昇し、高尿酸血症や痛風の原因となることが知られています。新たなプロバイオティクス乳酸菌として、プリン体に直接作用し、腸管から吸収されるプリン体を低減させる *Lactobacillus gasseri* PA-3 株 (以下 PA-3 乳酸菌) を見出しました。

兵庫医科大学との共同研究により、PA-3 乳酸菌を含むヨーグルトを摂取すると、プリン体摂取後30分と60分に血清尿酸値量が低下することが認められました。すなわち、PA-3 乳酸菌を含むヨーグルトを摂取すると、腸管からのプリン体の吸収が低減し、プリン体摂取後の尿酸値上昇が抑制されることが考えられました。

### (4) 高カカオチョコレートに関する研究

当社では、チョコレートの原料であるカカオのポリフェノールに関する研究を、世界に先駆けて行ってきました。2014年には、愛知県蒲都市、愛知学院大学、当社の産学官共同でチョコレート摂取による健康効果に関する実証研究を実施しました。その結果、高カカオチョコレート摂取により動脈硬化や認知機能に関わる生体指標が改善されることを確認しました。

この実証研究では、45～69歳までの347人に、カカ



オポリフェノールを多く含む高カカオチョコレート 25 g を4週間摂取していただき、摂取前後の生活習慣病に関連する指標を評価しました。その結果、①血圧が高めの人ほど、血圧が低下、②善玉コレステロール（HDL コレステロール）が上昇、③動脈硬化の検査などに使われる炎症指標（hs-CRP）と酸化ストレス指標（8-OHdG）が低下、④精神的にも肉体的にも活動的になった（アンケート調査による結果）、⑤うつ病やアルツハイマー型認知症、記憶・学習などの認知機能との関連性が報告されている血中BDNF（脳由来神経栄養因子）が上昇、といった生体指標の変化が認められました。

また、高カカオチョコレートについて、食後血糖値の上昇を示す指標であるGI値（グライセミック・インデックス）をオーストラリアの専門機関で測定したところ、低GI食品であることがわかりました。「チョコレート効果カカオ72%」のGI値は29、「チョコレート効果カカオ86%」のGI値は18であり、GI値55以下の低GI食品であることがわかりました。つまり、高カカオチョコレートを摂取した場合、血糖値の上昇が緩やかであることがわかりました。

#### (5) カカオ豆・チョコレートに関する研究

当社では「チョコレートは明治」の言葉通り、カカオ豆の選定・発酵技術、チョコレートへの加工・生産技術を長年蓄積してきました。これらの技術を活かして、健康志向チョコレートとスペシャリティチョコレート（世界に通用する高品質・プレミアムなチョコレート）の市場を拡げています。高品質のカカオ豆を自分たちで作り上げるため、実際にカカオ豆産地の農園に出向き、求める品質のカカオ豆を作る取り組みを長年進めてきました。カカオ農家の作業内容とカカオ豆の品質との関係を科学的に研究し、カカオ農家での発酵実験も繰り返し実施して、明治独自のカカオ豆品質をつくりあげてきました。

カカオ豆の品質に影響を与える特に重要な因子は、カカオ豆の品種、発酵方法、焙煎（ロースト）方法です。カカオ豆の品種・発酵方法・焙煎方法がチョコレートの味・香りに与える影響について基盤研究や生産技術研究を進め、「明治ザ・チョコレート」（図5）という商品に活かしています。



図5 「明治ザ・チョコレート」  
Figure 5 “Meiji The Chocolate”

## 5. オープンイノベーションの推進

研究開発を一層スピーディーに進めるため、明治イノベーションセンターを核としたオープンイノベーションを推進しています。フランスのパスツール研究所をはじめ国内外の有力な企業や研究機関とネットワークを築き、私たちが強みを持つ「乳」「カカオ」「乳酸菌」「栄養設計」の4つの領域において、お客さまの「健康な食生活」に貢献できる価値創造に取り組んでいます。

一例として、フランス・パスツール研究所との共同研究について紹介いたします。

当社は、パスツール研究所とLB81乳酸菌（「明治ブルガリアヨーグルト」に使われている乳酸菌）を対象に、2011年11月から共同研究を開始しました。パスツール研究所が単独の日本企業と大規模な共同研究をするのは初めてでした。

これまで乳酸菌は、腸内細菌のバランス、すなわち「腸内フローラ」を改善することで、さまざまな健康への影響を持つと考えられてきました。この共同研究をきっかけに当社は、このような考えに加え、LB81乳酸菌が腸管内の免疫細胞に働きかけるとともに、「腸管バリア」機能も高めることを確認しました。

さらに、この共同研究では研究対象を乳酸菌 *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1 株（以下、乳酸菌 OLL1073R-1 株）に広げ、これまで明らかにしてきたナチュラルキラー細胞（NK細胞）に加え、広範な免疫賦活能について評価しました。その結果、さまざまなT細胞において、免疫の活性化に関わるホルモン様分子であるインターフェロン $\gamma$ （IFN- $\gamma$ ）の分泌を促進することを見出しました。



乳酸菌 OLL1073R-1 株は、これまでの研究から自然免疫に関わる NK 細胞に対し、賦活作用を持つことが確認されています。この知見をもとに、乳酸菌 OLL1073R-1 株の免疫増強作用のメカニズムや有効成分について共同研究を実施してきました。

その結果、乳酸菌 OLL1073R-1 株が産生する独自の多糖体（EPS）が、免疫活性化物質である IFN- $\gamma$  の分泌を CD4T  $\alpha\beta$  細胞、CD8T  $\alpha\beta$  細胞などの T 細胞で促進することを見出しました。すなわち、乳酸菌 OLL1073R-1 株は、NK 細胞だけでなく、獲得免疫に関わる T 細胞にも作用していることが示され、免疫に対して広い働きを持つことが示唆されました。このような幅広い免疫システムへの作用が、これまでの研究で確認されている風邪や患リスク低減作用、唾液中の抗菌・抗ウイルス活性を持つ IgA の分泌促進作用と関連している可能性が考えられます。

## 6. 「明治イノベーションセンター」のこれから

明治イノベーションセンターにおいては、①社内外の「知」の融合を促すレイアウトというハード面、②組織、しくみなどの研究体制のソフト面、③変革を促すワークスタイル（意識・行動・風土）という、三位一体で連続的なイノベーションを創出し、「健康な食生活」に寄与する新たな価値を創造していきたいと考えております。

2016 年 10 月に創業 100 周年を迎えた明治グループは、次の時代に向けて新たな歩みを進めております。デジタル技術・情報技術の進展、IoT・AI の普及などいわゆる「第 4 次産業革命」の到来、国内の超高齢化、グローバル環境の変化など、私たちをとりまく環境は大きく変化しております。このような激しい環境変化の中でも、研究開発によるイノベーションの実現と新たな挑戦を続け、常に一步先を行く価値をご提案することで、お客さまの健康に貢献してまいります。

## 略歴

### 中村 博文(なかむら ひろふみ)

1989 年	東京大学農学部卒業
1989 年	明治製菓株式会社 生物科学研究所
2007 年	明治製菓株式会社 食料健康総合研究所 基礎研究部 品質研究センター長
2008 年	明治製菓株式会社 食料健康総合研究所 研究管理部 研究推進センター長
2012 年	株式会社 明治 研究企画部研究推進第 2 センター長
2017 年	株式会社 明治 研究戦略統括部研究管理部専任部長
現在に至る	

# FAO/WHO 合同食品規格計画

## 第40回コーデックス栄養・特殊用途食品部会報告

森永乳業株式会社  
研究本部 健康栄養科学研究所

江原 達弥



### 要 旨

第40回コーデックス栄養・特殊用途食品部会（CCNFSDU）が、2018年11月26日（月）から30日（金）までドイツ・ベルリンにて開催された。主な合意内容は以下のとおり。

(1) 第42回コーデックス委員会総会（CAC42）への送付に合意した事項（ステップ5）

- ・フォローアップフォーミュラの規格改定作業〔議題4b〕

セクションA（後期乳児用製品）の規格の範囲、定義、表示要件をステップ5としてCAC42の予備採択に進める。

(2) 各議題の合意事項（ステップ2/3/4）

- ・フォローアップフォーミュラの規格改定作業〔議題4a, 4b〕

i) セクションAの表示要件について、次回のコーデックス食品表示部会（CCFL45）に承認を委託する。

ii) 次回の部会にてセクションBの製品定義と表示、規格全体の構成と前文について議論する。

iii) 電子作業部会にて、セクションBの炭水化物の甘味に関する作業と、未議論の項目に関する作業を実施する。

- ・RUTF（調理不要でそのまま食べられる栄養治療食）のガイドラインの提案〔議題5〕

i) 電子作業部会を再設置し、食品添加物及びたんぱく質のセクションを議論する。

ii) 積み残されている勧告をステップ4に留め置き、次回の部会の物理作業部会で検討する。

- ・生物学的強化の定義の提案〔議題6〕

提案された定義案をステップ4に留め置き、コーデックス食品表示部会（CCFL）に意図と合致するかの検討及びコーデックス文書への挿入個所の明確化を要請する。

- ・トランス脂肪酸（TFA）の「free」表示のための討議資料〔議題8〕

TFAの「free」表示のための議論を中断し、電子作業部会の議長国がTFA低減のための異なるリスク管理の方法に関する討議文書を作成し、次回部会で提案する。

(3) その他の合意事項

- ・オメガ-3長鎖多価不飽和脂肪酸EPA及びDHAのNRV-NCD（非感染性疾患予防のための栄養参照量）の提

Report of the 40th Session of the Codex  
Committee on Nutrition and Foods for Special  
Dietary Uses

TATSUYA EHARA, Ph.D.  
Senior Research Scientist  
Wellness & Nutrition Science Institute,  
R&D Division,  
Morinaga Milk Industry Co., LTD.

## 案 [議題 7]

作業の中止を CCEXEC77 (コーデックス執行委員会) と CAC42 に通知する。

- ・後期乳児と年少幼児のための NRV-R (栄養表示のための栄養参照量) [議題 9]

電子作業部会を再設置し、未議論の勧告や栄養素の優先順位付け、コーデックス文書への挿入箇所などを検討する。

- ・食品添加物の技術的正当性検討のためのメカニズム／フレームワークに関する審議資料 [議題 10]

次回の本部会前に物理作業部会を開催し、フレームワークに関する残された議論及びキシランタンガム、ペクチン、ジェランガムの技術的必要性の評価を行う。

- ・プロバイオティクスのガイドライン作成に関する新規作業提案 [議題 11]

議論は来年以降に持ち越し、提案国は討議文書案を再提出する。

- ・栄養プロファイルを確立するための一般ガイドライン作成に関する新規作業提案 [議題 12]

コスタリカとパラグアイが既存の栄養プロファイルの調査を進め、次回部会の議論のための討議文書を提出する。

- ・その他の業務及び今後の活動 [議題 13]

①乳児用調製乳及び特殊医療用途の乳児用調製乳のための分析方法

対象の分析方法を CCMAS (コーデックス分析サンプリング法部会) に提出し、承認及び既存方法の再分類・修正を求める。

②部会の作業をよりよく管理する優先順位付けの仕組み

本部会の作業の優先順位付け及び長期的な管理のための討議文書を議長国が作成する。

\* \* \* \* \*

## &lt;Summary&gt;

The 40th Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Use (CCNFSDU) was held in Berlin, Germany from 26 to 30 November 2018. The Committee agreed to the following matters.

## (1) Matters for CAC42 adoption (step 5)

- ・Review of the Standard for Follow-up Formula (Agenda Item 4b)

The committee agreed to advance Scope, Product definition and Labelling of Section A (follow up formula for older infants) to Step 5 for adoption by CAC42.

## (2) Matters of each agenda items (step 2/3/4)

- ・Review of the Standard for Follow-up Formula (Agenda Item 4a, 4b)

The committee agreed to:

i) Send the labelling provisions for Section A to CCFL45 for endorsement.

ii) Discuss product definition and labelling of Section B and the structure and preambles of the Standard(s) at CCNFSDU41.

iii) Re-establish the EWG to address the issue of sweetness of carbohydrates and to complete the remaining sections.

- ・Proposed Draft Guideline for Ready-to-Use Therapeutic Foods (Agenda Item 5)

The Committee agreed to re-establish an EWG to develop the section of Food additives and Proteins. The rest of the text was held at Step 4 for the consideration at CCNFSDU41.

- ・Proposed Draft Definition for Biofortification (Agenda Item 6)

The Committee agreed to hold this work at Step 4 and request CCFL to consider if the definition would meet their intended needs and to clarify the codex text which this definition would be best placed in.

- ・Discussion Paper on Claim for “Free” of Trans Fatty Acids (Agenda Item 8)

The Committee agreed to suspend the discussion on the claim for “free” of TFA, and the chair of EWG prepare a discussion paper about other possibilities for risk reduction of TFA for consideration at CCNFSDU41.

(3) Others on the handling of the agenda

- Proposed Draft NRV-NCD for EPA and DHA Long Chain Omega-3 Fatty Acids (Agenda Item 7)

The Committee agreed to discontinue the work and inform CCEXEC77 and CAC42 accordingly.

- NRV-R for Older Infants and Young Children (Agenda Item 9)

The Committee agreed to re-establishing EWG to consider remaining recommendations, prioritization of nutrients and codex texts in which NRVs-R should be placed.

- Food Additives – Mechanism / Framework for Considering Technological Justification and Other Matters (Agenda Item 10)

The Committee agreed to establish PWG prior to CCNFSDU41 to consider the remaining matters about the Framework and to evaluate the technological need of xanthan gum, pectin and gellan gum.

- Discussion Paper on Harmonized Probiotic Guidelines for Use in Foods and Dietary Supplements (Agenda Item 11)

The Committee agreed to consider this item at its next session. Argentina will redraft the discussion paper.

- Discussion Paper on General Guidelines to Establish Nutritional Profiles (Agenda Item 12)

The Committee agreed that Costa Rica and Paraguay would research the different nutrient profile models which are already built or published, and develop the discussion paper for consideration by CCNFSDU41.

- Other Business and Future Work (Agenda Item 13)

i) Methods of analysis for provisions in the Standard for Infant Formula and Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants

The Committee agreed to submit the methods to CCMAS for review and endorsement, and request CCMAS to re-type or revoke the related existing methods.

ii) Prioritization mechanism to better manage the work of the Committee

The Committee agreed that the host country would prepare a paper summarizing already finished, ongoing and not going forward works as well as emerging new proposals of this committee for prioritization and long-term management of overall works.

## 1. はじめに

第40回コーデックス栄養・特殊用途食品部会 (CCNFSDU40) 会議が、2018年11月26日(月)から30日(金)までベルリン(ドイツ)で開催された。73加盟国、1加盟組織(EU)、41国際機関からおおよそ約400人が参加した。

日本政府から、芳賀 めぐみ氏(消費者庁 食品表示企画課 課長補佐)を代表に、織戸 亜弥氏(農林水産省 消費・安全局 食品安全政策課 係長)、酒井 義瑛氏(厚生労働省 生活衛生食品安全企画課 国際食品室 技官)、各省庁のテクニカルアドバイザーとして石塚 敏氏(北海道大学大学院 農学研究院 基盤研究部門 准教授)、石見

佳子氏(国立研究開発法人 国立健康・栄養研究所 シニアアドバイザー)、千葉 剛氏(国立研究開発法人 国立健康・栄養研究所 食品保健機能研究部 部長)が出席した。また、他に日本から NGO として国際生命科学研究機構(ILSI Japan)から2名、国際栄養補助食品業界団体連合会(IADSA)1名、国際アミノ酸科学協会(ICAAS)3名、国際清涼飲料協議会(ICBA)2名、国際協同組合同盟(ICA)1名が参加した。会議はドイツ連邦食糧農業省のAnja Brönstrup博士と、Hilke Thordsen-Böhm女史がそれぞれ会合の議長と副議長を務めた。





写真1 40th CCNFSDU ポスター

Photo 1 Poster of CCNFSDU40



写真2 会議会場内の様子

Photo 2 CCNFSDU40 Conference Hall

## 2. 第40回コーデックス栄養・特殊用途食品部会の審議内容と主な結果

### (1) 議題1：議題の採択

・暫定議題を会議の議題として以下の通り採択し、エジプトの提案文書 NFSDU/40 CRD/2（からだづくりのためのプロテインサプリメントの基本要件に関する新規作業の提案）、米国の提案文書 NFSDU/40 CRD/3

（乳児用調製乳及び乳児用特殊用途調製乳の規格（CODEX STAN 72-1981）における分析方法）、スーダンの提案文書 NFSDU/40 CRD/4（食品及びダイエタリーサプリメントに使用するプロバイオティクスの国際的ガイドライン作成に関する新規作業の提案）について、議題13：「その他の業務と今後の活動」として議論することに合意した。

議題2：コーデックス総会及び／または他の部会が当部会に委託した事項

議題3：FAO 及び WHO からの関心事項

議題4：フォローアップフォーミュラの規格改定作業

議題4a：必須組成要件

議題4b：範囲、製品定義、表示、製品名

議題5：RUTF（調理不要でそのまま食べられる栄養治療食）のガイドラインの提案

議題6：生物学的強化の定義の提案

議題7：オメガ-3 長鎖多価不飽和脂肪酸 EPA 及び DHA の NRV-NCD の提案

議題8：トランス脂肪酸の「Free」表示のための討議資料

議題9：後期乳児及び年少幼児の NRV-R に関する審議資料

議題10：食品添加物の技術的正当性検討のためのメカニズム／フレームワークに関する審議資料

議題11：食品及びダイエタリーサプリメントに使用するプロバイオティクスの調和されたガイドラインに関する審議資料

議題12：栄養プロフィール設定のための一般ガイドラインに関する審議資料

議題13：その他の業務及び今後の活動

議題14：次回会議の日程及び場所

(2) 議題2：コーデックス総会及び／または他の部会が当部会に委託した事項（CX/NFSDU 18/40/2）

1) 食品添加物規格の整合に関するガイダンス及び整合の計画について

コーデックス食品添加物部会（CCFA）からガイダンスが出版されたことから、部会は本案件について議題10の2つめのパートで議論することに合意した。

2) 関連する食品添加物規格の廃止の検討について

部会は、乳幼児用シリアルベースの加工食品規格 (CXS 74-1981) 中の酒石酸一ナトリウム (INS 335 (i))、酒石酸一カリウム (INS 336 (i))、酒石酸二ナトリウム (INS 336 (ii)) の規格について、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) による特定がなされていないため廃止することに合意した。

### 3) 部会の作業管理を改善するための優先順位付けの仕組み

コーデックス執行委員会 (CCEXEC) による要請を受け、部会は、長期的な活動計画の策定を検討することに合意した。

### 4) 乳児用調製乳及び特殊医療用途の乳児用調製乳規格 (CXS 72-1981) 中の分析方法

部会はビタミン D の条項について規格に残し、将来的に規格を見直すか決定する必要があることに合意した。

## (3) 議題3：FAO 及び WHO からの関心事項 (CX/NFSDU 18/40/3)

### 1) FAO からの報告事項

以下の点について、部会に注意を払うように要請した。

- (a) FAO/WHO 合同専門家会合 (JEMNU) による、乳児用調製乳及びフォローアップフォーミュラに使用する大豆／乳由来原料の窒素 - たんぱく質換算係数を確立するための科学的助言を提供する取り組み。
- (b) FAO の専門作業部会 (2017 年 11 月ローマ開催) から発行された、年少幼児用フォローアップフォーミュラ及び RUTF (調理不要でそのまま食べられる栄養治療食) のたんぱく質の「質」に関するレポート (本内容は 2018 年 11 月 24 日に開催された RUTF の物理作業部会にて報告された)。
- (c) 食品に基づく食事ガイドライン (FBDGS) の開発と実行における FAO の支援と、0～2 才を対象とした FBDGS の開発における最近の各国の取り組み。
- (d) 「国連の栄養に関する行動の 10 年 (2016～2025 年)」の最初の進捗報告の発表について。

### 2) WHO からの報告事項

以下の報告がなされた。

- (a) 塩分／ナトリウム、砂糖、脂肪の摂取 (工業的に生産されたトランス脂肪酸 (TFA) を含む) を低減するための WHO の勧告 / 目標に対する、民間団体の取り組みをモニターするための枠組みをセットアップしていること。

- (b) 乳幼児の食事改善のための新たなインフォメーションノート「6～36 か月齢児を対象としたフォローアップフォーミュラの分類を母乳代替品とすることの明確化」が出版されたこと。

(<http://www.who.int/nutrition/publications/infantfeeding/information-note-followup-formula-bms/en/>)

- (c) ガイドライン作成や各国のロードマップ作成支援など、WHO の TFA 低減のための取り組みについて。TFA 撲滅が WHO の 13th 一般プログラム (2019～2023) の優先目標であること。

- (d) アルコールの有害な利用に関する新規活動について。

## (4) 議題4：フォローアップフォーミュラの規格改定作業

### <経緯>

対象月齢 (セクション A 後期乳児用製品：6～12 か月齢、セクション B 年少幼児用製品：12～36 か月齢) により 2 つのセクションに分けて議論されてきた。必須組成 (議題 4a) は一部を除いて前回の CCNFSDU39 において合意され、ステップ 5 としてコーデックス総会で承認されていた。今回は、残されていた年少幼児用製品のたんぱく質に関する脚注 2、炭水化物に関する脚注 4、及びビタミン D について議論された。規格の範囲、定義、表示、規格の構成、前文 (議題 4b) はまだ規格原案の検討段階 (ステップ 4) であり、多くの議論が残されていた。

### 1) 議題 4a：必須組成要件 (CX/NFSDU 18/40/4)

- (a) 年少幼児用製品 たんぱく質：脚注 2

### 【議論内容】

本会議前に FAO の専門作業部会によるフォローアップフォーミュラのたんぱく質の「質」の評価に関するレポートが発行されたため、これを考慮した脚注案が提案され、議論された。旧来法の PER (たんぱく質効率比) を含めるか否かの議論がなされたが、いまだ多くの国が PER 法を用いていることから、PDCAAS (たんぱく質

消化吸収率補正アミノ酸スコア) が望ましいという記述とともに PER も含めることで合意された。また、DIAAS (消化吸収を加味した必須アミノ酸スコア) が最も正確な評価方法であるがデータがまだ不十分という FAO の見解があった。

#### 【結論】

以下が合意された。

- ・ PDCAAS あるいは PER によって評価すべきで、PDCAAS がより望ましいこと。
- ・ PDCAAS スコア = 90 %、あるいは PER = カゼインの 85% を閾値とすること。
- ・ DIAAS が FAO により承認されれば、これも使用できること。

(b) 年少幼児用製品 炭水化物：脚注 4

#### 【議論内容】

乳糖以外の甘味を呈する炭水化物の添加の制限について、議論がなされた。乳以外のたんぱく質ベースの製品に使用する炭水化物の甘味をデキストロース当量 (DE) で制限する案が出されたが、DE が甘味を正確に反映するものではないことから意見の一致は得られず、電子作業部会に持ち越された。

#### 【結論】

以下が合意された。

- ・ 乳たんぱく質ベースの製品では乳糖が好ましいこと、乳以外のたんぱく質ベースの製品に使用する炭水化物の DE に関する案件は電子作業部会で議論すること。
- ・ 炭水化物源としてショ糖と果糖の使用を認めず、また乳糖以外の単糖、二糖の使用を 2.5 g/100 kcal 以下 (各国権威により 1.25 g/100 kcal 以下まで制限可能) に制限すること。
- ・ 甘味を増強する非炭水化物性の成分を添加すべきではない記述を角括弧付きで「3.2.1 任意成分」の項に挿入し、電子作業部会で議論すること。

(c) 年少幼児用製品 ビタミン D

#### 【議論内容】

各国の日照時間や摂取状況から、提案されている下限値と上限値に対して、異なる値の提案がいくつかのメンバー国からなされた。また、ビタミン D の形態としては D<sub>3</sub> が望ましく、利用性の低い D<sub>2</sub> は含めるべきではないという意見があった。しかしこれらの懸念は、各国の事情により変更可能との脚注により対応できるとされ、提案どおりに合意された。

#### 【結論】

ビタミン D の規格値について、下限値 1.5 µg/100 kcal、上限値 4.5 µg/100 kcal が、各国の栄養要求により変更可能との脚注と共に合意された。

2) 議題 4b: 規格の対象範囲、定義、表示、規格の構成、前文 (CX/NFSDU 18/40/5)

冒頭、規格の構成 (セクション A/B を 1 つの規格とするか異なる 2 つの規格とするか) を議論する前に、細部を議論する方針が確認された。

①セクション A (後期乳児用製品)

(a) 規格の対象範囲

#### 【結論】

提案された記述どおりに合意された。

(b) 製品の定義

#### 【議論内容】

本製品は母乳代替であるとの一般的な合意がなされた。また、本カテゴリー製品は不必要との立場のメンバー国を中心に、提案された定義に対する修正意見が多くなされ、これらが反映された定義となった。

#### 【結論】

以下の定義が合意された。

「Follow-up formula for older infants means a product, manufactured for use as a breast-milk substitute, as a liquid part of a diet for older infants when progressively diversified complementary feeding is introduced.」

(c) 表示

#### 【議論内容】

部会は、表示要件が WHO の「母乳代替品のマーケティングコード」及び「乳幼児用食品の不適切なプロモーションの終了に関するガイダンス」に基づくことに留意しながら文案を検討し、修正が行われた。クロスプロモーションの禁止に関する記述を挿入することが提案されたが、この記述が製品表示のみを対象とするのか、広告等の販促活動も含むのかについて議論された。「Label」は製品表示を指すが、コーデックスの定義上、「Labelling」は製品表示のみならず販促活動も含むことが明確化された。クロスプロモーション禁止の対象については合意に至らず、「Label/Labelling」として角括弧付きで残された。

#### 【結論】

以下が合意された。

- ・ 栄養や健康に関する強調表示を禁止する記述。



- ・母乳育児の終了を誘導するものでないことに関する記述。
- ・異なる製品カテゴリー間のクロスプロモーションの禁止の記述を含めること。

## ②セクション B (年少幼児用製品)

### (a) 規格の対象範囲

#### 【結論】

提案された記述どおりに合意された。

### (b) 製品の定義

#### 【議論内容】

本製品が母乳代替か否かについて意見が分かれた。母乳代替とすることを支持するメンバーはこれらの製品が実際に母乳代替品として機能していることや、WHO がこのカテゴリーの製品を母乳代替品とみなしていることなどを指摘した。母乳代替としないことを支持するメンバーは、本製品の役割や目的が母乳代替ではないこと、組成が母乳とかけ離れていることなどを指摘した。合意には至らず持ち越しとなった。

#### 【議題4の結論】

部会は以下に合意した。

- セクション A の範囲、定義、表示について、ステップ 5 として CAC42 (コーデックス総会) の予備採択に進めること (付属文書Ⅲ)。
- セクション A の表示要件について、次回のコーデックス食品表示部会 (CCFL45) に承認を委託すること。
- 次回の本部会 (CCNFSDU41) にてセクション B の製品定義と表示、規格全体の構成と前文について議論すること。
- 電子作業部会にて、セクション B の炭水化物の甘味 (脚注 4 の DE の記述、及びセクション 3.2.1 の甘味を増強する原料の記述) に関する作業と、未議論の項目 (純度の要件、ビタミン・ミネラル原料の要件、密度と粒度、禁止事項、食品添加物、汚染、衛生、包装、コンテナへの充填、分析・サンプリング方法) に関する作業を実施すること。

## (5) 議題 5 : RUTF (調理不要でそのまま食べられる栄養治療食) のガイドラインの提案 (CX/NFSDU 18/40/6)

### <経緯>

第 36 回 (2014 年) の本部会において、ユニセフから

重度の急性栄養失調の児に対する高エネルギー・高栄養の治療食「RUTF: Ready-to-Use Therapeutic Foods」に関するガイドライン作成の提案がなされた。対象は 6～59 か月齢で、現地で供給可能な原材料を使用することが意図されている。今回の部会開催前に物理作業部会が開催され、使用可能な原材料や必須組成要件について予備合意がなされた。この際、RUTF 及びフォローアップフォーミュラのたんぱく質の「質」に関する FAO のレポート内容が報告された。部会は物理作業部会で予備合意された内容について議論した。

#### 【議論内容】

ガイドラインについて以下が合意された。

勧告 1 : 原材料 (セクション 5.1.2 マメ科植物及び種子)

植物エストロゲンの低減及びソラマメ中毒を引き起こすソラマメの使用禁止に関する記述を追加すること。

勧告 2 : 原材料 (セクション 5.1.5 ビタミン及びミネラル)

「metabolisable-base (代謝性塩基)」の文言の理解のために、「buffer」の単語を挿入すること。

勧告 3 : 原材料 (セクション 5.2.1 炭水化物)

・望ましい炭水化物の形態 (植物スターチ、乳糖、マルトデキストリン、ショ糖) を規格の本文に挿入すること。

・遊離の糖の添加を認め、上限を総エネルギーの 20 % までとすること。

・「甘味のための遊離糖の添加は控えめにすること」の記述を削除すること。

・予備加熱処理された／ゼラチン化されたスターチのみが使用可能であることを明記すること。

勧告 4 : RUTF の配合における他のマトリックスの使用

RUTF の配合マトリックスが準拠すべきコーデックス文書 (CXS 180-1991) と必要なエビデンスを「原材料」のセクションの冒頭に挿入すること。

勧告 5 : エネルギー (セクション 6.1)

エネルギーの範囲を 520～550 kcal/100g とすること。

勧告 17 : 食品添加物及びフレーバー (セクション 5.2.2)

・食品添加物のセクションについて、提案されている段階的アプローチ (① RUTF で使用されている添加物の特定、②他のコーデックス規格中でこれら添加物の使用が許可されているか調査、③食品添加物規格を参照するガイドライン内のテキストの作成) に従って作



成すること。

- ・フレーバーは使用すべきでないこと。

#### 【結論】

今後の作業について以下が合意された。

- 南アフリカを議長国、セネガルとウガンダを共同議長国とした電子作業部会を再設置し、食品添加物及びたんぱく質のセクションを議論する。
- 積み残されている勧告を次回の部会の物理作業部会で検討する。

#### （6）議題 6：生物学的強化の定義の提案（CX/NFSDU 18/40/7）

##### ＜経緯＞

生物学的強化（Biofortification）は作物や動物中の栄養素を増大させる行為であり、微量栄養素欠乏に対する対策として行われている。CCFL からの要請により、第 36 回（2014 年）の本部会において生物学的強化の定義を作成することが合意された。本年の電子作業部会において、定義の修正案と、CCFL への作業要請に関する勧告が作成されており、これらについて議論された。

##### 【議論内容】

定義案「Biofortification is any process other than conventional addition to food whereby nutrient content is increased or become more bioavailable in all potential food sources for the intended nutritional purposes.」に対して、以下を含むいくつかの懸念が示された。

- ・定義の範囲が広すぎる。遺伝子組み換えも含まれる可能性があり、消費者を誤認させるおそれがある。
- ・Biofortification の「Bio」はいくつかの国で「オーガニック」を意味するため、混乱を招く。
- ・この定義がコーデックスのどの文書に挿入され、どのように利用されるのか不明であるため、当部会はさらなる議論を行なう立場にない。

メンバー国らは、本議題が CCFL からの要請であることから、この定義がどこでどのように利用されるかについて CCFL が明確にすべきであるという見解を示した。

##### 【結論】

部会は以下に同意した。

定義案を現状のステップ 4 に留め置き、CCFL に以下を要請する。

- 定義案が CCFL の意図するものに合致するか検討

する。

- 定義がコーデックスのどの文書に挿入され、どのように利用されるのかを明確にする。

#### （7）議題 7：オメガ-3 長鎖多価不飽和脂肪酸 EPA 及び DHA の NRV-NCD（非感染性疾患予防のための栄養参照量）の提案（CX/NFSDU 18/40/8）

##### ＜経緯＞

前回の本部会にて、部会直前に NUGAG（WHO 栄養ガイダンス専門家諮問グループ：Nutrition Guidance Expert Advisory Group）から多価不飽和脂肪酸の冠状動脈性心疾患（CHD）に関するシステマティックレビューと RCT（無作為化比較試験：Randomized Controlled Trial）分析の結果に関する資料が提出されたものの、詳細な検討には時間が不十分として、電子作業部会を再設置し、次の部会まで議論を延期することとしていた。

##### 【議論内容】

部会では、当面の作業を中止するか、さらなる根拠が得られるまで議論を延期するかどうか検討した。

昨年度示された NUGAG の報告から、CHD の死亡率に対して、EPA と DHA の影響については十分な根拠がないこと、NUGAG からの報告の後に発表された三つの試験を含めたとしても、NUGAG の解析結果の全体的な結論が変わらなかったことが示された。

##### 【結論】

現時点で EPA 及び DHA について NRV-NCD を設定することは時期尚早であるとして、作業の中止を CCEXEC77 と CAC42 に通知することで合意した。

#### （8）議題 8：トランス脂肪酸（TFA）の「free」表示のための討議資料（CX/NFSDU 18/40/9）

##### ＜経緯＞

前回の本部会にて、「脂肪 100 g あたりの TFA を 1 g」とする基準値に一般的な合意があった。しかし、同時に飽和脂肪酸の「低」の条件を付すことについては合意できず、次回の部会にて議論することに合意していた。

##### 【議論内容】

部会では、電子作業部会の議長国であるカナダから、TFA の「free」表示の議論が説明され、「脂肪 100 g あたりの TFA を 1 g 以下」の条件と付則設定の有無について議論された。

食品中のTFAを低減することは公衆衛生上重要であることが一般的には合意された。しかし、「free」表示の要件を設定することが可能かどうかについては、主に以下の理由から合意が得られなかった。

- ・全ての食品中のTFAを正確に測定することは不可能である。
- ・もともとTFAが含まれない食品でも「free」表示が可能であり、誤解を招く可能性がある。
- ・低TFAであっても、飽和脂肪酸の条件によって「free」表示ができない食品がある。

WHOからは、TFAの摂取を全エネルギー摂取の1%以下に削減し、合わせて飽和脂肪酸の摂取量を全エネルギー摂取の10%以下に抑えることを目的として施策が進められていることが示され、飽和脂肪酸の「低」の条件を維持することの重要性が強調された。

また、TFA摂取削減のためのリスク管理のオプションとして、ラベルの表示条件を設定する以外に、CCCF（食品汚染物質部会）にTFAの最大レベルを設定するように要請する提案があった。現時点ではCCCFに作業を要請することは時期尚早であるものの、現在実施している作業について、CCFO（食品油脂部会）とCCFLに通知することで合意した。

#### 【結論】

部会は、TFAの「free」表示のための条件案に関する議論を中断することを決定した。また、電子作業部会の議長国であるカナダが、コーデックスの任務の範囲内で、他のリスク管理方法でTFAの低減を試みるための討議文書を作成し、次回部会で提案することで合意した。

#### （9）議題9：後期乳児と年少幼児のためのNRV-R（栄養表示のための栄養参照量）（CX/NFSDU 18/40/10）

##### <経緯>

前回の本部会にて、アイルランドを議長、米国とメキシコを共同議長とした電子作業部会を設置し、コーデックス文書における後期乳児と年少幼児のためのNRV-Rの設定の必要性和価値について、主にNRV-Rが適用される特定の年齢グループの評価を検討することが合意されていた。

#### 【議論内容】

部会は以下に合意した。

##### 勧告1（年齢グループ）

後期乳児と年少幼児の2つのNRVs-Rを1つに統合するか否かを、栄養要求量の実際の値に応じて決定し、2つのNRVs-Rを統合することに関する勧告1cを追加すること。

##### 勧告2（年齢範囲）

年齢範囲は、後期乳児を6～12か月齢、年少幼児を12～36か月齢とすること。

#### 【結論】

アイルランドを議長、コスタリカとアメリカを共同議長とした電子作業部会を再設置し以下の課題に取り組むことに合意した。

- 本年提示の討議文書について、年齢範囲の決定を考慮し、引き続き勧告3～6について検討する。
- NRVs-Rを設定するビタミン・ミネラルをリスト化して優先順位を付け、たんぱく質を含めるか否かを検討する。これらを既存のどのコーデックス文書に挿入するのかを決定する。

#### （10）議題10：食品添加物の技術的正当性検討のためのメカニズム／フレームワークに関する審議資料（CX/NFSDU 18/40/11）

##### <経緯>

第33回（2011年）の本部会において、CCFAから、乳児用調製乳及び特殊医療用途の乳児用調製乳規格（CXS 72-1981）に記載の食品添加物の再評価に関する要請があった。これは、JECFAの原則に則った評価（生後12週未満の児に対する安全性の評価）が、同規格に記載の食品添加物に対して行われていないことを受けてのものである。本部会では、JECFAに安全性評価を依頼する添加物の技術的正当性を検討するための仕組み作りが行われている。本年の部会では、会期中のin-session 作業部会より提案された技術的正当性検討のためのプロセスとフレームワークが議論された。

#### 【議論内容】

部会は提案されたプロセスと、フレームワーク中の以下の記述に合意した。

##### 勧告1：プロセス

提案されたプロセス（付属文書Ⅷ、Annex I）。

##### 勧告2：フレームワーク

- ・適用範囲（CCNFSDUが請け負う食品規格及びCCFAから要請された食品）。
- ・添加物の特徴と意図する用途を明確にするための質問

(Q1)。

- ・食品添加物一般規格 (GSFA) の前文に準拠することを明確にするための質問 (Q2)。
- ・乳幼児を対象とした食品添加物に対するアプローチに準拠することを明確にするための質問 (Q3)。

#### 【結論】

部会は、今後の作業について以下に合意した。

今回の本部会前に物理作業部会を開催し、以下を行う。

- i) フレームワークに関する残された議論
- ii) フレームワーク中の質問項目の検討
- iii) 既に要望のあるキサンタンガム、ペクチン、ジェランガムの技術的必要性の評価

#### (11) 議題 11：プロバイオティクスのガイドライン作成に関する新規作業提案 (CX/NFSDU 18/40/12)

##### <経緯>

前回の本部会にて、IPA（国際プロバイオティクス協会）から、ガイドライン作成の提案がなされたものの、提案文書の提出が遅れ議論ができず、次回部会では、アルゼンチンがプロジェクト文書と討議文書を準備することで合意されていた。

##### 【議論内容】

議長から、この項目を検討する際に、CCEXEC75 からの、作業の優先順位付けの要請を考慮する必要があるとの提起があった。アルゼンチンは本議題について説明したが、同時に、提示した討議文書案が不十分な内容であることから、本討議文書を修正し、次回部会にて再提出することを提案した。本作業提案に賛成するメンバー国が多くあった。いくつかのメンバー国は、本部会の作業が滞っていることなどから、正式議題とすることに現時点では反対の立場を示した。

##### 【結論】

- i) 本提案に関する議論は、来年以降に持ち越しとなった。
- ii) アルゼンチンは、次回の部会に向けて、特に Scope、definition、health and trade concerns に関する項目を詳細にした討議文書案を再作成することで合意した。

#### (12) 議題 12：栄養プロファイルを確立するための一般ガイドライン作成に関する新規作業提案 (CX/NFSDU 18/40/13)

##### <経緯>

食品包装前面 (FOPL: front of pack label) の栄養表示に関する作業を補完するために CCFL から依頼された案件である。前回の本部会において、CCFL がまだ栄養プロファイルが必要か否かの決定に達していないことから、議論を先送りすることで合意されていた。

##### 【議論内容】

コスタリカは討議文書を作成して作業を継続し、栄養プロファイルを確立するためのガイドラインに対して情報提供することが重要との意見を示した。部会では、どのように進めるべきかについて意見交換がなされた。

WHO からは、栄養プロファイルの実際の活用方法について紹介された。また、他の栄養プロファイルに関する論文も出版されていることが通知された。CCFL において FOPL 作業の共同議長を務めるニュージーランドからは、段階的アプローチを取るべきとの提案がなされた。現在は WHO や他の機関により構築されている栄養プロファイルモデルの調査を行なう段階であり、討議文書を検討するのは時期尚早との意見が示された。

##### 【結論】

部会は以下のことに合意した。

- i) コスタリカとパラグアイが既存の栄養プロファイルの調査を進め、次回部会の議論のための討議文書を提出する。
- ii) アメリカがこの作業を支援する。

#### (13) 議題 13：その他の業務及び今後の活動

##### 1) 乳児用調製乳及び特殊医療用途の乳児用調製乳 (CXS 72-1981) のための分析方法 (NFSDU/40 CRD/3)

##### 【議論内容】

会期中に in-session 作業部会が開催され、その結果がアメリカから報告された。ビタミン K、葉酸の分析方法が関連するコーデックス文書で指定されたものと一致することを確認した。

##### 【結論】

ビタミン K、葉酸、及び 9 種類のミネラル及び微量元素 (カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、カリウム、塩素、亜鉛) のための分析方法を、レビュー及び承認のために CCMAS (コーデックス分析サ

ンプリング法部会) に提出し、関連する文書の既存の方法の再分類及び修正を求めることに合意した。

2) 部会の作業をよりよく管理する優先順位付けの仕組み

#### 【議論内容・結論】

- i) 本部会の作業が滞っていることから、CCEXEC75 の要請に応じて、全体的な作業の優先順位を決定し、長期的に管理するための作業計画を検討することに合意した。
- ii) 議長国のドイツが討議文書を作成し、当部会にてこれまでに完了した作業、現在進行中の作業、以前から部会に提案されているものの、進展しなかったいくつかの議題について取りまとめることに合意した。
- iii) この文書には、時間的制約のために今回の部会で取り上げられなかった、プレバイオティクスのガイドラインと、からだづくりのためのプロテインサプリメントに関する議題も含まれる予定である。

#### (14) 議題 14：次回会合の日程及び場所

第 41 回コーデックス栄養・特殊用途食品部会は、以下のとおり開催される予定であり、コーデックス事務局との協議、及びホスト国政府の確認の後に決定されることが報告された。

期間：2019 年 11 月 25 日～29 日

場所：ドイツ・デュッセルドルフ

#### 略歴

江原 達弥(えはら たつや)博士(医学)

2003 年 上智大学大学院理工学研究科 修了

2003 年 森永乳業株式会社 入社

2007 年 同 食品基盤研究所

2008 ～ 2013 年 東京医科歯科大学 分子内分泌代謝学分野 (小川佳宏教授)

2012 年 森永乳業株式会社 栄養科学研究所

2016 年 森永乳業株式会社 研究本部 健康栄養科学研究所

現在に至る



# ILSI 2019 本部総会報告

## 総会出席者

2019 年 ILSI 総会、及び ILSI サイエンスシンポジウムが、1 月 8 日（火）から 1 月 13 日（日）まで米国フロリダ州クリアウォーターにて開催された。参加者は約 280 名であった。本年より ILSI HESI（Health and Environmental Sciences Institute：環境保健科学研究所）が ILSI より脱退して独立したため、ILSI RF（Research Foundation：研究財団）と各地域の 16 支部の合計 17 団体により ILSI は構成されることになった。

ILSI サイエンスシンポジウムは、今回“A Brave New World in Nutrition and Food Safety”というテーマのもとで 6 セッションが催された。ILSI では、付加価値の高い、今後も維持継続できるシンポジウムにするべく、3 か年計画を遂行しており、本年度はその 1 年目にあたる。そのような中、今回初めて北米以外の支部が 3 セッション、北米が 3 セッションをそれぞれが主催し、また初めて ILSI 以外からの参加者も募った。来年以降も、外部からの参加者を増やす努力と共に、個別のセッションを外部団体との共催にするなど、幅広くそのオプションを検討していく。来年度は、“Smart Eating For Health and Safety”のテーマで、コスタリカで開催されることが決まっている。

本部理事会では、ガバナンス強化の一貫で、ILSI Board of Trustees（理事会）及び ILSI Assembly of Members（アッセンブリー）の体制変更に関する決議がなされた。また、味の素（株）木村毅様（ILSI Japan 副理事長）が ILSI 理事長に任命され、今後の理事会、アッセンブリー改革、ガバナンス強化を推し進めることになった。

2019 年 ILSI サイエンスシンポジウムに関しての発表詳細は、ILSI のウェブサイト、<http://ilsi.org/event/2019-ilsi-annual-meeting/> をご覧いただきたい。

(ILSI Japan 中村英世)

## ◆ 2019 年 ILSI 総会会議スケジュール（抜粋）

日時	会議
1/8（火）	
16:00-19:00	ILSI Management Team Meeting
16:00-19:00	ILSI Branch Staff Meeting
1/9（水）	
08:00-12:00	ILSI Management Team Meeting
13:00-17:00	ILSI Asian Entities Meeting
17:00-19:00	ILSI NA Carbohydrates Forum
1/10（木）	
08:00-10:30	Science Session 1: New Technology for Improving Accuracy in Food Intake and Physical Activity Assessment
11:00-13:00	Science Session 2: New Technologies & Approaches in Microbiota Research for Managing Food Safety
14:30-17:00	Science Session 3: How Can New Technology Impact Research Studies?
17:00-19:00	Poster Session
1/11（金）	
08:00-10:30	Science Session 4: New Technologies & Applications in Food Science
11:00-13:00	Science Session 5: Novel Foods and the Future: Opportunities, Challenges and Exploring the Path Forward for New Technologies
14:30-16:30	Science Session 6: Food Processing & Food Waste: State of Technology
1/12（土）	
14:00-17:00	ILSI Assembly Meeting
1/13（日）	
09:00-12:00	ILSI Board of Trustees Meeting
12:00-14:00	ILSI Executive Committee Meeting
15:00-16:00	ILSI Executive Directors Meeting
15:00-16:00	ILSI Branch Staff Meeting

Report from ILSI Annual Meeting 2019

Participants of Annual Meeting

## I. 各種会議・委員会

### 1. ILSI Board of Trustees Meeting

(1/13 9:00-12:00)

#### (1) 役員の交代

元 ILSI 理事長 Dr. Peter Van Bladeren の 2018 年末の引退により、2019 年度より、味の素（株）木村毅様（ILSI Japan 副理事長）が ILSI 理事長に就任した。また各支部の事務局長からなる Management Team Meeting の議長が、前任の ILSI RF 事務局長 Dr. Morven McLean から、ILSI 東南アジア地域支部事務局長の Ms. Boon Yee Yeong に交代した。

#### (2) ガバナンス

今回の理事会は、昨年より継続審議が続いているガバナンス強化（理事会、アッセンブリーの体制変更）に多くの時間が費やされた。

今回の理事会で下記項目が決議された。

##### ① ILSI Assembly of Members（アッセンブリー）の構成変更

現在アッセンブリーは、各支部の ILSI 会員企業（産）により構成されているため、ILSI のポリシーである産学連携を実現していない。これを是正するため、ILSI に属する 17 団体の理事会から、産業 1 名とアカデミアまたは公共機関 1 名の計 2 名を各団体の代表としてアッセンブリーのメンバーとする。また各団体は、それぞれが 1 議決権を持つことが決議された。

アッセンブリーの主な責任は、各団体を代表し、ILSI の基本的な事項の変更、決定（Scientific integrity を含む Mandatory policy や ILSI に属する各団体との契約（Bylaws）や、コンプライアンス管理、等）、ILSI GC（Governance and Coordination: ILSI 本部）の予算承認、アッセンブリーの各メンバーの選任や変更の承認、及び理事の選任とする。

##### ② ILSI Board of Trustees（理事会）の構成変更

理事会の機能をフレキシブルで、機動的にするため、現在の 21 名の理事から、地域構成を考慮した計 10 名の理事で理事会を構成する。この内訳は、欧州 2 名、アジア 1 名（中国、インド、日本、韓国、

台湾を代表して）、東南アジア 1 名、北米 2 名、ラテンアメリカ 1 名、ILSI RF 2 名、その他支部から代表 1 名とする。

理事は、アッセンブリーメンバーとは兼任できず、1 期 3 年任期とし継続して 2 期までは可能とする（但し 1 年の間隔を置き、再度 2 期 6 年の任期を可能とする）。理事会の主な責任は、各事務局長（Management Team）、ILSI GC スタッフとの連携の下、アッセンブリーより挙げられた問題の解決、コンプライアンス及び ILSI の運営管理、ILSI GC の予算作成、アッセンブリーへの報告などを実施する。

#### ③移行

上記のように、アッセンブリー及び理事会の構成変更を理事会にて決議した。この決議により、現在 ILSI の運営管理、判断を行っている、理事会から選任された Executive committee は新しいガバナンスの施行により解消される。

今後は、決議に従い移行プロセスとその詳細を検討し、逐次移行が実施されることになる。

### (3) Financial Oversight Committee

ILSI GC の 2018 年度の決算、2019 年予算を、3 つのセグメント（GC の活動及びコミュニケーション、年次総会、出版）に分けて説明が行われ、2019 年度の予算は承認された。

その詳細は、2018 年度はブレイクイーブンの予算を組んだが、67 千ドルの利益を見込んでいる。但し、2019 年度は、65 千ドルの損を見込んだ予算を組んでいる。これは、HESI 離脱による支部からの負担金の減少、GC スタッフ強化による人件費の増加、またコストダウンの努力を継続しているが、年次総会のコスト負担が主な原因である。この予算を可能な限り改善できるよう、会員の増加、コストダウンを継続して検討、実施する。

### (4) Nomination Committee

2018 年度の理事の異動の報告ののち、新たに ILSI 理事会のオフィサーとして、Dr. Kerr Dow（米国カーギル社）が Vice President として、Dr. Ellen de Brabander（米

国ペプシコ社) が、Treasurer として推薦され、承認された。

(ILSI Japan 中村英世)

## 2. Asian Entities Meeting

(1/9 13:00-17:00)

It is an annual tradition at the ILSI Annual Meeting for all branches located in Asia, including ILSI Focal Point in China, ILSI India, ILSI Japan, ILSI Korea, ILSI Southeast Asia Region and ILSI Taiwan, to organize the ILSI Asian Branches Meeting. The purpose of the meeting is to share with one another each branch's scientific activities from the past year, their upcoming plans for the current year, as well as to discuss potential collaborative activities and projects between branches.

This year, the ILSI Asian Branches Meeting was held on January 9, 2019 with full attendance from every Asian branch. Mr Geoffrey Smith, President of ILSI Southeast Asia Region, chaired the meeting and provided the welcome remarks. Each branch then shared the key highlights from the past year and upcoming activities in alphabetical order. A wide range of scientific topics were covered by ILSI Asian branches including risk assessment for agricultural biotechnology, nutrition and healthy aging, alternatives to animal testing for food safety, food additive safety evaluation, physical activity, probiotics and the microbiome, nutrition labeling and health claims, as well as next generation sequencing and food safety. One of the highlights from the past year was the ILSI BeSeTo meeting, which was successfully organized by ILSI Taiwan in Taipei and was participated by most of the ILSI Asian branches.

After the information sharing by each branch, Ms. Pauline Chan from ILSI Southeast Asia Region updated the meeting participants about the ongoing collaborative projects. The joint ILSI Asian branches project to develop a monograph on “Review of Status of Nutrition Labeling, Nutrition and Health Claims Regulations in



Asia” is on track, with the draft manuscript being finalized for publication by March 2019.

Participation by multiple ILSI branches at the upcoming Asian Congress on Nutrition in Bali, Indonesia, was also discussed. ILSI will be sponsoring the “ILSI Young Scientist Award” and providing the award to the 10 best oral and poster presenters. Sponsored symposium sessions are also being planned on scientific themes including physical activity, cognition and nutrition, diabetes, as well as a plenary session on nutrigenomics and personalized nutrition.

Finally, the next ILSI BeSeTo Meeting will be hosted by ILSI Southeast Asia Region and held in Penang, Malaysia from September 26-27, 2019. Other potential collaborative topics that were briefly discussed include a global project to compare how short-term glucose response to food is measured and translated (co-led by ILSI North America and ILSI Southeast Asia), reviewing physical activity status among Asian countries,





Omega-3 fatty acid intakes, and working together on the topic of alternatives to animal testing.

During the meeting, it was with a heavy heart that we learnt that several prominent leaders among ILSI Asian branches have passed away over the past year. This includes Prof. Chunming Chen, the former Executive Director of ILSI Focal Point in China; Mr. Pai D. Panandiker, who was the President of ILSI India; and Mr. N. M. Kejriwal who was the Chairman of ILSI India. Everyone here at ILSI Japan would like to express our sincere condolences to our colleagues and friends at ILSI Focal Point in China and ILSI India over their tragic loss.

(味の素株式会社 Teoh KengNgee)

### 3. ILSI Assembly of Members Meeting

(1/12 14:00-17:00)

#### (1) Introduction to the ILSI Science Symposium

Connie M. Weaver 会長 (Chair) より、本総会で開催した6つのシンポジウムのうち、3つは従来通り ILSI 北米支部が主催、他の3つは初めての試みとして北米支

部以外の ILSI 支部が合同で企画、共催するシンポジウムであることが紹介された。

#### (2) Malaspina International Scholar Travel Award

以下6名が受賞し、総会で口頭およびポスター発表を行った。

- ・ Dr. Ji Yeon Kim, University of Science and Technology (ILSI 韓国支部推薦) : ヒト介入試験による食品の機能性評価法に関する研究
- ・ Dr. Daniel Garrido, Pontifical Catholic University of Chile (ILSI 南アンデス支部推薦) : 数学的モデルを用いた腸内細菌叢の代謝的相互作用のシミュレーションに関する研究
- ・ Dr. Emmanuel Herrera González, National University, Costa Rica (ILSI メソアメリカ支部推薦) : 中央アメリカの児童の過体重、肥満、運動に関する国別比較解析研究
- ・ Dr. Lindiwe Julia Neube, Sefako Makgatho Health Sciences University, South Africa (ILSI 南アフリカ支部推薦) : 食糧栄養安全保障と健康への影響と食品栄養規制に関する社会科学研究
- ・ Dr. Dunyaporn Trachootham, Institute of Nutrition, Mahidol University, Thailand (ILSI 東南アジア支



部推薦)：嚥下障害者用ゼリー、プロバイオティックス等、新規食品の安全性評価に関する研究

- ・Dr. Barakatun Nisak Binti Mohd Yusof, Universiti Putra Malaysia (ILSI 東南アジア支部推薦)：糖尿病患者における栄養改善に関する研究

### (3) 基調講演 “Scientific Integrity (SI)”

1) マネジメントチーム内に設置された Scientific Integrity (SI：科学公正) 分科会における検討内容について、同分科会の議長 Dr. Clare Rubinstein より以下の報告があり、科学財団にとって SI に対する取り組みの重要性が高まっていることが紹介された。

① 8 つの基本指針を採択し、ILSI 組織内外での共有を図るため、ILSI 書籍、ウェブサイト等での掲載を開始。

② 米国政府、カナダ政府、11 の学会、6 大学、3 つの NGO からの代表が参加する SI コンソーシアムを ILSI 北米支部が主催。2 つの原則と 9 つの Best Practices を作成し、この内容は Science and Engineering Ethics に投稿中。案として ILSI 北米支部のウェブサイトにて公開。

2) “New Developments in Research Integrity” Lex M. Bouter, Ph.D., Professor of Methodology and Integrity, Amsterdam University Medical Centers and Free University of Amsterdam

Bouter 教授は疫学が専門で、現在は主に「責任ある研究活動」に関する教育や研究に携わり、2017 年から World Conferences on Research Integrity Foundation (WCRI Foundation) の会長を務めている。

SI に関する最近の動向として、①盗用などの不正問題に対する取り組みから現場における問題のある研究慣行に注目した取り組みへのシフト、②論文複製問題を解決するための透明性の確保、③研究不正を解決するためのステークホルダーによる協業について、それぞれの事例を含めて紹介された。研究不正に関する研究者に対する調査では、2 % の研究者は研究不正行為があったと回答、更に 34 % が無知、悪意のない間違い等のずさんな研究実施があったと答えたとのこと。このようなことが起こる背景について、7,000 人を超える WCRI 参加者に対し調査したところ、不十分な指導・監視、強い確信による結論への影響、不適切な試験デザインや不適切な測定方

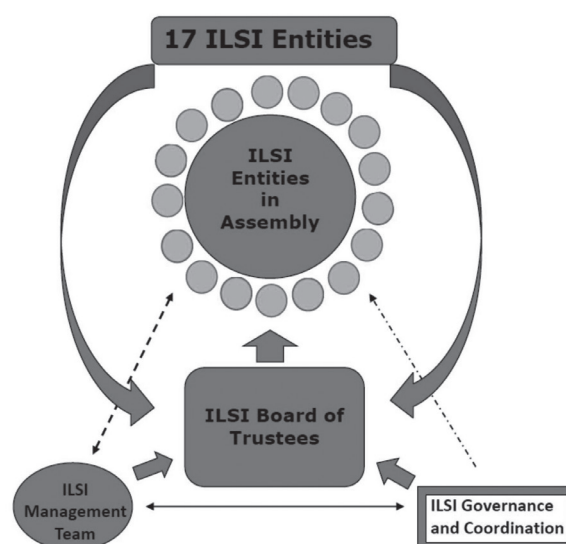
法の選択、正当な否定的結果の未出版、適切な試験を実施するために必須の分析機器・経験への無配慮の 5 つに集約されるという結果が得られている。正当な否定的結果が、出版バイアス、成果報告バイアス、引用バイアスなどによって論文から消えてしまうため、再現性のある研究は 10～40 % に過ぎない状況になっている。このような慣行を是正するのに有効なのが透明性の確保で、研究の計画段階からプロトコルや統計解析計画を事前に登録し、データ及び報告をオープンアクセスにする学術誌が増えてきている。研究財団としては、研究機関の適格性の評価、透明性の要求、オープンデータ・オープンアクセスの指示、「責任ある研究活動」を発展させることができる研究への助成を推進していくことが必要である。

### (4) ILSI 理事長 (President) および ILSI 会長 (Chair) 報告

木村理事長より ILSI の 2018 年の活動と今後の取組みとして以下が報告された。

1) 18 支部の学術活動として、81 の出版物、305 件の科学イベント、142 の学術動画、1,000 を超えるステークホルダーとの共同活動を、126 人の ILSI 専任従業員を中心に公共目的のために実施。

2) ILSI はこの 40 年間、Public-Private パートナーシップのリーダーとして国際的な活動を展開してきたが、財源確保や巨大化した組織の統一性の課題が顕在化したため、2017 年から引き続きガバナンスの見直しを実施中である。



### 3) 2018 年の組織変更

- ① 日本支部の中村事務局長を始め、台湾、北アンデス、北米各支部において新事務局長が就任。
  - ② ILSI のガバナンスと調整を行うチーム (ILSI Governance and Coordination: ILSI GC) のミッションを再規定し、運営部長とコミュニケーション部長のポジションを新設。
  - ③ ILSI RF の Dr. Mc Lean が議長、ILSI 東南アジア支部の Ms. BY Yeong が副議長を務めるマネジメントチームを 2018 年 1 月に設立。各支部事務局長がチームのメンバーとなり、外部評価マネジメントや各支部が実施する学術プログラムに関する行動規範などについて検討。
  - ④ 8 つの基本指針を含む Mandatory Policy を作成し、ホームページで公表。
- 4) 2019 年は、新組織体制へ向けた移行期間と位置づけ、ILSI の本部運営にあたる ILSI GC も一支部の位置づけとし、ILSI 全体が支部と ILSI RF の連合となる組織改定を行う (加盟する企業による会員組織とは異なる体制)。新体制における各組織の役割は以下の通り。
- ① 新アッセンブリーは、各支部・組織から同数の代表者により構成され、public-private のバランスを図る。
  - ② 新理事会は、現在より規模を縮小し、アッセンブリーを支える位置づけとする。
  - ③ 2019 年総会のシンポジウムでも一部新たな試みを開始しているが、来年以降については ILSI サイエンスシンポジウムのプログラム委員会が 3 年計画を作成し、ILSI 北米支部以外が主催する方向性を検討中。2020 年の総会は ILSI メソポタミア支部が主催し、

シンポジウムは公開する方針。

- 5) 長年 ILSI に貢献された Prof. Chen Chunming (ILSI 中国事務所 元 Director)、Mr. D H Pai Panankiker (ILSI インド支部 元 Chairman)、Mr. N M Kejriwal (ILSI インド支部元 President) を追悼し、黙祷が捧げられた。

### (5) ILSI マネジメントチーム報告

マネジメントチームを代表し、副議長の Ms. BY Yeon から以下が報告された。

#### 1) 2018 年活動内容

- ① SI を担保するための ILSI 各支部を拘束する Mandatory Policy を作成し、全支部が同意書にサイン。
- ② Best practice : 各支部にてサイエンスプログラムを実施する際に使うプロセス評価とベストプラクティス例を作成。

#### 2) 2019 年活動予定

- ① SI : サイエンスプログラムを実施する際に SI を担保するための情報センター機能とツールを検討する。
- ② One ILSI Task Force : ILSI グローバル調整戦略に基づき、2 件の研究プロジェクトについて組織横断的に実施予定。また、組織横断的に実施している Healthy Aging Project の統合レポートを完成する。
- ③ 各支部への加盟促進と財源確保について、新しいワーキンググループを設置して検討する。
- ④ コミュニケーション能力と ILSI ブランドの信頼性の向上 : プロアクティブなコミュニケーション戦略について検討予定。

(味の素株式会社 荻原葉子)



## II. ILSI 2019 Science Symposium

### A Brave New World in Nutrition & Food Safety: Applying New Technologies and Paradigms in Nutrition & Food Safety

#### ◆ Science Symposium Keynote (サイエンスシンポジウム基調講演) (1/10 8:10-8:40)

#### New Technologies and the Fifth Industrial Revolution: What Does This Mean for Research and Advancement in Nutrition Science and Health Promotion?

(新技術と第5次産業革命：栄養科学と健康増進の研究と進歩にとって何を意味するか？)

Karl E. Friedl, PhD, COL. (ret),

U.S. Army Research Institute of Environmental  
Medicine, USA

20世紀、国家安全保障が必要とした、実質的に高度な栄養科学研究は、健康で活動的なヒトの代謝要求量の確立、NHANES 方法論確立に至った微量栄養素欠乏症に関する国際的研究、体組成の評価方法およびエネルギー摂取量不足に関する研究、また、食品保存および保存方法の確立につながった。第4次産業革命は、個人のモニタリングとIoT、ゲノミクス、そしてフィジオームが、かつてない大量のデータを生み出し、それらは大容量の計算能力を通して管理が可能になり、洗練されたモデルと人工知能を通して現実に感知もできる。変化のスピードはさらに加速し、ヒューマンオンチップや仮想ヒューマンモデルなどの技術により、短期間で結果が得られる研究を可能にする。代謝や環境への反応の個人差を明らかにできる栄養調査を併用した個人対応医療においては、さらに複雑な関係が解読できるようになる。それがひいては一人一人のフェノームが要求する健康状態やパフォーマンス能力に基づいたテ일러メイドの食事へとつながるかも知れない。国家安全保障上のニーズが、再び、学際的な生物医学的問題解決のモデルや栄養科学を推進させる。現代の生活は、国家防衛に必要な兵力を減少させる肥満のパンデミックを引き起こしたが、今度はさらに進んだ技術がその解決を助ける。なかでも、種々のバイオモニタリングツールと仮想の代謝コーチが

重要である。国防の優先事項は、食料、飲料水供給、地球温暖化の影響も受けており、これらはまた、栄養科学にとっても大きな課題である。その課題の範囲は、三大栄養素の必要量の評価や新たな食料源の開発から、食事由来の疾病や行動調節にまでわたる。究極的には、第5次産業革命が、技術的に個人別に可能になった神経栄養に焦点を絞ることで頭と体を結び付けるだろう。

(ILSI Japan 柳沢 佳子)

#### ◆ Science Session 1: New Technology for Improving Accuracy of Food Intake and/or Physical Activity Assessment (食事摂取量と身体活動の評価の精度を高める新たな技術) (1/10 8:40-10:40)

食事摂取と身体活動の評価の精度を改善する技術と機器の進歩を世界的な視点から検討した。先進工業国に限らず、発展途上国でも健康増進と公衆衛生改善のために幅広く使用されている新たな技術について考察した。

##### (1-1) Accuracy of Wearable Devices for Estimating Total Energy Expenditure: Comparison with Metabolic Chamber and Doubly Labeled Water Method

(総消費エネルギー推定のためのウェアラブルデバイスの精度：メタボリックチャンバーと二重標識水法の比較)

Hiroyuki Sasai, PhD,

University of Tokyo, Japan

(笹井先生ご自身が本誌次号に寄稿されるため本稿では省略する)

##### (1-2) Dietary Intake Assessment Using Technology Including Wearables: Gaps and Future Requirements

(ウェアラブルを含む技術を用いた食事摂取評価：乖離と将来に向けた必要性)

Janet Cade, PhD,

University of Leeds, UK



新たな技術が、食事摂取量の測定法に大きな変化をもたらす。大規模集団のリアルタイムの迅速評価も可能になる。しかし測定結果の正確性の観点からは、これらの方法の妥当性には依然として課題が残る。ポーションサイズの見積もり、データベースの検索のしやすさ、ユーザーのIT技術リテラシーも考慮する必要がある。いま、市場の食品は非常に多数・多様で複雑で、標準的な食品成分表の掲載項目数と掲載項目では限界がある。

Webベースの新しい技術、アプリ、センサー、カメラは、コストも時間もかかる手動の栄養計算が不要で、多数の個人の詳細な食事データの取り込みをサポートする。この新たなアプローチは、測定誤差を減らし、疾病の栄養上の決定要因の理解を進める。

Webベースの食事評価ツールと人気の減量用栄養アプリについて、バイオマーカー項目を含むWebベースの食事評価ツール「myfood24」の実例を紹介する。

「myfood24」には、約45,000種類の市販食品と一般食品のパッケージ表示情報を使用して新しい食品組成データベースを作成するツールがある。このツールは現在、イギリス、オーストラリア、ドイツ、デンマーク版があり、今後、その他の言語のバージョンも作成予定である。ソーシャルメディアやスーパーマーケットのロイヤルティカードなどを取り込んで、食行動や食品の安全性評価のプラットフォームとしての、新しい形式のデータが作成できる可能性もある。このような新技術、特にウェアラブルセンサーは、まだ開発の初期段階にあるが、既存の方法を改善、補完するばかりでなく、既存の方法に置き換わる可能性がある。食事評価に用いられる新技術が、集団調査の際に、食品と栄養素の摂取量を確実に把握する能力を大きく変えていくだろう。この分野の開発はペースが速く、技術開発の進捗状況、データの妥当性、ユーザーの受け入れ可能性などは、今後、継続してモニターしていくべきである。

### (1-3) Food Image Analysis: The Big Data Problem You Can Eat!

(食品画像の分析: “食べられるもの” ビッグデータの課題)

Edward J. Delp, PhD,  
Purdue University, USA

米国における10の主要な死因のうち6つは、食事と直接関連する可能性があると考えられる。それら慢性疾患の予防を目的とした介入プログラムを開始するときに、食

事の摂取量や何を食べるかを決定するプロセスは貴重な情報である。食事摂取量の正確な測定は、栄養と健康の関連性解明において未解決の研究課題と考えられており、Purdue大学のTechnology Assisted Dietary Assessment (TADA) プロジェクトでは、食べている食品の正確な推定値を自動的に取得できる画像ベースのツールを開発している。

そのひとつは携帯機器と内蔵カメラを使った新しい食品記録方法で、「モバイルフードレコード (mFR)」と呼ばれている。喫食前後の画像から、消費した食物量を推定する。mFRはまた、運動と食事パターン情報など、他の種類の情報も収集できる。このTADAプロジェクトは、Purdue大学、Hawaii大学、オーストラリアのCurtin大学のさまざまな学部間の大規模な協働の成果である。

(ILSI Japan 柳沢佳子)

## ◆ Science Session 2: New Technologies & Approaches in Microbiota Research for Managing Food Safety

(食品安全のための微生物管理の新技術と取り組み)

(1/10 11:00-13:00)

食糧供給ルート中の病原体の制御を目的とした、動物の微生物叢研究における技術変化による食の安全性の革新への挑戦について検討した。

### (2-1) The Science of Pathogens and Antimicrobial Resistance in the Microbiome

(微生物叢における病原菌と抗菌剤耐性の科学)

Noelle Noyes, DVM, PhD,  
University of Minnesota, USA

ハイスループット次世代シーケンシング技術は非常に多様な微生物集団を明らかにした。病原体と抗菌剤耐性遺伝子を含む微生物集団とは共通の特徴を有する一方で、畜産の生産と収穫にかかわる、複雑な微生物の生態系における、病原体及び抗菌剤耐性遺伝子を含む微生物集団の挙動がよりよく理解できるようになった。畜産業界全体の一貫した課題として、家畜、精肉や畜肉製品の両方に関連する病原体や抗菌剤耐性遺伝子を含む微生物集団に対して、家畜管理と食品安全プロトコルがどのように影響するかの検討がある。そこでショットガンメタゲ



ノミクスシーケンスを用いて調査した、家畜の生産と畜肉包装工場の両方に関連する微生物群集に関する、最近の研究の結果をレビューした。その結果、微生物叢、病原体組成、耐性遺伝子種が、家畜生産の各段階で劇的に変化すること、屠殺時に導入する複数の微生物増殖抑制操作が、食肉製品の微生物集団に劇的な影響を与えることが分かった。

## (2-2) An Emerging Technology: The Use of Next Generation Sequencing for Improving Food Safety

(新しい技術：食の安全性を改善するための次世代シーケンサーの使用)

Peter Gerner-Smidt, MD, DSc,

US Centers for Disease Control & Prevention, USA

次世代シーケンシング (NGS) は、より手頃な価格で迅速にあらゆる生物のゲノムを解読できる技術である。NGS と強力なバイオインフォマティクスとを組み合わせることで、全ゲノム配列決定 (WGS) と、メタゲノム解析による複雑な微生物叢の理解がすすみ、個々の病原性や共生微生物に関する知見が急速に増加した。

WGS は現在、食品に由来する疾患に関する検査室業務と、食料供給ルートにおける病原体の追跡を大きく変えた。WGS を用いることによって、例えば種の同定、血清型分類、その他の亜型分類、抗菌剤耐性試験といった複数の独立した検査による種の特性解析を、1つの効率的な WGS ワークフローに統合することが可能になった。それによって早期発見により初期に流行が見つかるようになり、食料生産における感染経路はより正確に検出されて、問題点検出の効率が上がり、より安全な食品の生産と食中毒の予防につながっている。

異なる微生物の特定の遺伝子のアンプリコン配列決定 (「メタコード化」) もしくは検体の全ゲノムのランダムショットガン配列決定により、臨床検体や食品検体中の核酸の直接配列決定 (メタゲノミクス) もまた、我々の人間、動物、環境、食品中の細菌に対する理解を変えている。結局のところこの知識は、宿主と病原体や偏利共生微生物の相互作用がもたらす感染性疾患に対する我々の理解にパラダイムシフトをもたらし、病原体や腐敗菌を含む食品中微生物叢の動態の更なる理解につながるのだろう。短期的には、アンプリコンシーケンシングは公衆衛生分野で臨床検体中の食中毒病原体やその原因食品の検出と亜型分類に用いられて、培養の必要性を軽減

すべく用いられると考えられる。

まだ技術的に複雑で、潜在的な危険もあるが、NGS は食品安全に急速な革命を起こしている。食品工業での日常的な検査方法として用いられるにはまだ高価だが、技術が進化して、より安価になれば、その状況も変わるだろう。

## (2-3) Innovative Treatments Enhancing the Functionality of the Animal Microbiome to Improve Quality and Microbiological Safety of Foods Produced from Animals

(家畜の健康改善を目指した介入：動物性食品の品質と微生物学的安全性の改善を目指した、家畜の微生物叢の機能性を高める革新的な治療法)

Robin C. Anderson, PhD,

USDA/ARS, USA

畜産動物の大腸は、サルモネラ菌、腸管出血性大腸菌、カンピロバクターなど、ヒト病原体の貯蔵庫である。畜産動物はまた、それ以外のヒト病原性細菌や重要な薬剤耐性形質をもつ偏利共生菌や病原菌の貯蔵庫でもある。これらの食品由来病原体は、米国で何百万件ものヒトの疾病を惹起していると推定されており、その損失は額にして年間 400 億ドルを超えている。食肉処理時および食肉処理後の病原体による屠体の汚染を減少すべく、数多くの技術が開発されてきたが、製品回収やヒトでの食品由来疾患の発生が後を絶たないことからわかるように、そのいずれも絶対確実な方法ではない。食品由来病原体を完全に検出し、同定し、そして制御するために新しい技術が必要である。

反すう動物用の新しい亜硝酸塩代謝プロバイオティクスが開発され、第一胃内メタン排出量の削減を目的とした硝酸塩補給プログラムが実施された。この新しいプロバイオティクスは、既存の亜硝酸還元プロバイオティクスを大幅に改善したものである。この菌株は長期間、有効生存率を保持し、重要なグラム陰性病原体に対する抗菌活性を示す、亜硝酸代謝能力の増強のために選択された株である。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) およびコアグラゼ陰性ブドウ球菌を標的とする新しい技術を模索する研究も進んでおり、回復力のあるこれらの病原体を標的とした、乳房内の炎症および局所乳房炎に新たな治療が可能になろうとしている。それは MRSA やコアグラゼ陰性ブドウ球菌が発現する膜結合型硝酸レダク

ターゼに類似の、大腸菌およびサルモネラ菌が発現する硝酸レダクターゼを標的としている。MRSA が、硝酸レダクターゼ阻害剤と相乗的に作用する、ある種のニトロ化合物にも非常に感度が高いことも判明した。

畜肉業者が生産する肉や牛乳の付加価値を高めるツールとして、ルーメン内での不飽和脂肪の加水分解を防ぎ、それによって健康的な不飽和脂肪と共役リノール酸の取り込みを促進できる免疫学的方法も開発された。この技術のコンセプトは、抗ルーメンリパーゼ産生細菌に対する抗体、またはそれらが産生するリパーゼに対する抗体をルーメンに送達して、細胞内でこれらの酵素を不活性化する技術である。この技術の利点は、消化と乳脂肪生産への悪影響を最小限に抑えながら、家畜により多くの脂肪供給が見込める点にある。

以上のような特定の生理学的過程を標的とする戦略が、動物のミクロバイオームの機能的生態学を改変して、肉や牛乳の、品質と安全性の改善を可能にする。

(ILSI Japan 柳沢 佳子)

### ◆ Science Session 3: How Can New Technology Impact Research Studies? (新技術が調査研究に与えるインパクト) (1/10 14:30-16:45)

新しい技術がどのように研究デザイン、データ収集、分析に影響を与えるのかを探る。

#### (3-1) Ordinary Association Tests (OATs) and Extended Association Tests (EATs): Novel Statistics and Experimental Designs to Assess Causal Relationships between Variables

(通常の関連解析 (Ordinary Association Tests; OATs) と拡張された関連解析 (Extended Association Tests; EATs): 変数間の因果関係を検討するための新しい統計学と実験計画)

Gregory M Pavela, PhD,

University of Alabama at Birmingham, USA

無作為化比較試験 (RCT) は、因果関係のエビデンスの生成に不可欠な役割を果たし、因果推定のゴールドスタンダードと認識されている。しかし、RCT から得られた因果推定が、すべての非ランダム化研究よりも普遍的にも同等にも強いと仮定するのは誤りである。実

際、統計モデルに主に共変量として潜在的な交絡因子を含むことで調整する観察研究 (Ordinary Association Tests; OAT) と比較して、より強力な証拠 (Extended Association Tests; EAT) を提供しうる非無作為化検定デザインは数多く存在する。今回、より新たな、またはあまり知られていないデザインや検定を紹介する。詳細を説明する時間はないので、推奨図書を紹介する。いずれも OAT から派生したもので、OAT より強力なエビデンスを生成するが RCT ほど強力ではない。

メンデルランダム化は潜在的な交絡因子を制御するために遺伝的変異を用いる。パケットランダム化実験は個人レベルの交絡因子を制御するために、個人を曝露「パケット」にランダムに割りつける。また、無作為化または非無作為化の設定 (またはその両方) において、因果関係の推定を改善し、統計的エビデンスをより正確に所得する方法もある。これは実試験段階で個人を介入群に確率を用いて割り付けることで介入効果をより正確に推定するデザイン (randomization to randomization; R to R) や、計算上、大規模観察研究でネガティブコントロールを用いて経験的に校正された p 値などである。

以上、RCT でなくても因果推定を改善するために使用できる、さまざまな統計デザインやツールがある。これらのツールを容易に適用できない場合でも、これらのツールが解決しようとする問題を検討することで、ランダム化されていないデザインの長所と短所に関する理解を深めることができる。

#### <推奨図書>

- ・ Richardson MB, Williams MS, Fontaine KR, Allison DB. The development of scientific evidence for health policies for obesity: why and how. International journal of obesity (2005). 2017;41(6):840-848. doi:10.1038/ijo.2017.71.
- ・ Pavela G, Wiener H, Fontaine KR, Fields DA, Voss JD, Allison DB. Packet Randomized Experiments for Eliminating Classes of Confounders. European journal of clinical investigation. 2015;45(1):45-55. doi: 10.1111/eci.12378. PubMed PMID: PMC4314392.
- ・ George BJ, Li P, Lieberman HR, Pavela G, Brown AW, Fontaine KR, Jeanson MM, Dutton GR, Idigo AJ, Parman MA, Rubin DB, Allison DB. Randomization to Randomization Probability: Estimating Treatment Effects Under Actual Conditions of Use. Psychol

Methods. 2017. Epub 2017/04/14. doi: 10.1037/met0000138. PubMed PMID: 28406674.

- Schuemie MJ, Hripcsak G, Ryan PB, Madigan D, Suchard MA. Empirical confidence interval calibration for population-level effect estimation studies in observational healthcare data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018;115(11):2571-7. doi: 10.1073/pnas.1708282114. PubMed PMID: PMC5856503.

### (3-2) New Technologies to Maximise Output from Nutrition Studies

(栄養研究のアウトプットを最大化する新たな技術)

Lorraine Brennan, PhD,

University College Dublin, Ireland

ニュートリゲノミクスとは、メタボロミクス、プロテオミクス、トランスクリプトミクスなどのオミックス技術の栄養学への応用である。近年増加しており、栄養介入研究を支えるメカニズムへの知見を深める可能性を提供する。例えば、メタボロミクスは、介入後の代謝経路の変化の分析に適用でき、介入を支えるメカニズムの理解を深める。さらに食事摂取量に関する客観的な情報を得る重要なアプローチとしても着目され始めた。食物摂取バイオマーカーの使用は、食事の評価、食事療法へのコンプライアンスの確認、食事パターンと疾病との関連の評価において大きな可能性がある。また栄養ゲノミクスアプローチの適用は、パーソナライズドニュートリションを取り巻く概念の開発を可能にした。メタボロームプロファイルにおける個体間変動の把握は、異なる食事療法への反応の検討に使用できるメタボタイピングの開発をもたらした。

### (3-3) Integrating Novel Approaches in Study Design for Food Safety

(食品の安全性研究デザインにおける、さまざまな新技術の統合)

A Wallace Hayes, PhD, DABT, FATS, ERT, CNS

University of South Florida College of Public Health,

USA

安全性科学はしばしば「天然」成分を求める圧力と3R (Reduce, Reuse, Recycle) の遂行を求める圧力とによって推進され、新しいツールもしくは新しいアプローチとして進化し続けており、研究デザインの改善にも利用されるよ

うになった。人間は、さまざまな発生源からのさまざまな経路を経由して、同時にあるいは順番に、複数の化学物質に絶えず曝されている。混合物は可変的で複雑で、絶えず変化するそれらの特定は難しい。人間が曝される最も一般的な混合物は、私たちが消費する複合物質である。食品、サプリメント、その他植物性成分の潜在的な健康への影響を評価するために、*in vitro*、*in silico*、および *in vivo* などのモデルは、独立して、または複合的に用いられる。「懸念のある化合物」または既知の生物学的活性を持つ化合物と呼ばれる物質を同定するために、より優れた分析ツールが開発され続けることで、より優れた研究デザインが可能になる。混合物の安全性評価の重要な要素には、使用歴の十分な情報、エビデンスの重要度の体系的評価、*in silico* アプローチの使用、ハイスループット技術、システムアプローチ、ならびに *in vitro* と *in vivo* の生理学的薬物動態モデリングの適用などが挙げられる。

### (3-4) Changing Models and Methodologies for Food Safety and Nutritional Research in a Digitalized World

(デジタル化社会における食品安全と栄養研究で用いられるモデルと方法の変革)

Cronan McNamara, PhD,

Crème Global, Ireland

Crème Global 社は、新しい食事データ収集システム、個別化された栄養推奨エンジン、業界の参加者が匿名データを共有するための安全なデータポータル、全ゲノムシークエンシング、およびマイクロバイオームマッピングデータ、特定の科学食品の安全性などのすべてをまとめるための栄養アルゴリズムとデータサイエンスモデリングおよびコラボレーションプラットフォームの開発に取り組んできた。センサーやモノのインターネット (IoT) デバイスがより安価でより普及しつつある現在、クラウド内のスマートアルゴリズムを使用したリアルタイムのデータ収集、リスクのランク付け、意思決定支援システムが実用化されている。これらの新しいシステムを食品の安全と栄養の分野でどのように適用しているか、具体例を示す。

(ILSI Japan 柳沢 佳子)

## ◆ Science Session 4: New Technologies & Applications in Food Science



**(Food Science における新しい技術と応用)****(1/11 8:00-10:30)****(4-1) Applications of the HPP Technology: Challenges beyond Food Preservation**

(HPP (High Pressure Process) の応用について：食品保存を凌駕する試み)

Gerardo Gonzalez-Martinez, PhD,  
Lund University, Colombia

HPP は食品加工において、「健康」「便利さ」「安全」「新鮮さ」「品質」などの消費者ニーズに貢献する可能性をもっているが、消費者に新しい技術を正しく理解してもらい、受容してもらうための努力が必要となる。

**(4-2) Emerging Food Processing Technologies: Enhancing Food Safety and Nutrition**

(食品の安全性、栄養を高める新しい加工技術について)

Marcelo Cristianini, PhD,  
State University of Campinas, Brasil

新技術の例としてオーム加熱 (ohmic heating)、HPP (High Pressure Process) などがある。効率よく殺菌をおこない、栄養成分を保持し、あるいはより高めるプロセスとして期待される。また食品の保存性を高めることにより、食品廃棄を削減できる可能性もある。

**(4-3) Nanotech in the Context of the Food Industry: Some Applications**

(食品産業におけるナノテクノロジーの応用)

Sergio Paniagua-Barrantes, PhD,  
National Laboratory of Nanotechnology Laboratory  
(LANOTEC), Costa Rica

食品産業におけるナノテクの応用例として、パイナップル皮残渣からつくられるナノセルロース、シリカ微粉末がある。これらは殺菌性の銀粒子の吸着剤として利用される。

また、アルミニウムの微細構造を食品表面につくることにより (nanotopography) 食品表面の有害菌を顕著に減少させることができる。

**(4-4) Sustainability and Recycling in Packaging**

(包装における持続性とリサイクリング)

Marco F.C. Lucisano, PhD,  
RISE Research Institutes of Sweden, Sweden

循環経済 (Circular Economy) の実現が現代の大きな課題である。包装材料のリサイクルにおいては、リサイクル率を上げるだけでなく、リサイクルにおいて材料の価値を維持するという観点も考慮する必要がある。米国、スウェーデン、中国、ブラジルなど各国の消費者のリサイクリングに対する意識を調査したところ、特に都市生活者において、リサイクリングのシステムについての強い支持があることが分かった。これはリサイクルに対するポジティブバイアスとも言える。持続可能なシステムは多くの革新の組み合わせが必要で単一解ではありえない。

(ILSI Japan CHP 取出 恭彦)

**◆ Science Session 5: Novel Foods and the Future: Opportunities, Challenges and Exploring the Path Forward for New Technologies****(1/11 11:00-13:00)**

Science Session V focused on “Novel Foods and the Future Opportunities, Challenges and Exploring the Path Forward for New Technologies”. The session discussed various novel food technologies that are recently emerging on the market.

Dr. William Yan from Health Canada and Dr. Kristin Reimers from Conagra Brands chaired the session.

Introductory Remarks

Session Chair: William Yan, PhD,  
Health Canada, Canada

Dr. Yan opened the session by providing a brief overview of regulatory schemes for “novel foods”. Canada enacted regulations on novel foods in 1997 and it includes three categories within the scope:

- i) Foods with no history of safe use as a food;
- ii) Foods that have been modified by genetic manipulation (including mutagenesis, as long as a novel trait is introduced); and
- iii) Foods that have been produced through new processes (for e.g. high pressure processing)

Australia and European Union regulations have a similar scope except that do not include foods derived from genetically modified organisms. In contrast, the United States does not regulate novel foods as a separate category but they are covered within the



Generally Recognized As Safe (GRAS) system. Dr. Yan explained that novel food evaluations generally require a “case-by-case” approach, which can be challenging for regulatory authorities and industry alike. However, the existence of such a system also provides important reassurance to consumers that new foods brought to the market are safe for consumption. Furthermore, the “novel” status of a new food technology can eventually be removed once sufficient experience has been obtained for its use, such as the case of high pressure processing. Finally, he also stated that harmonization of novel food assessments are a common goal by industry and regulatory authorities through organizations including the Codex Alimentarius and OECD.

#### (5-1) Emerging Foods and Food Technologies, Benefits and Challenges

Richard Williams, PhD,

Mercatus Center at George Mason University, USA

Following the introductory talk, Dr. Richard Williams from George Mason University provided a presentation on “Emerging Foods and Food Technologies – Benefits and Challenges”. Dr. Williams explained that the current trend among consumers is avoid novel food technologies due to a perceived lack of benefits. This has given rise to the recent “clean label” movement. However, Dr. Williams explained that throughout history, such a trend has been repeated several times especially in the US, with consumers expressing a strong desire for simple and natural foods that are perceived to be healthy.

Consumers do not however realize that many foods naturally contain toxic substances, such as various poisonous mushrooms or cyanide in apple seeds. It is arguable that humans can in fact make much better food than nature through the application of food processing technologies. In line with this idea, Dr. Williams shared a number of new technologies that could potentially be beneficial to address societal concerns, including:

Issue	Technology	Solution
Obesity	3D printing	Print out the exact portion of food needed to limit calorie intake
	Augmented reality	Project Nourish: “virtual eating” through sensory experience without consuming any calories
	Nutrigenetics + Internet	Guide selection of appropriate foods to avoid gaining weight
Health	3D Printing	Printing of healthy foods, supplements and drugs
	Genetic engineering	Healthier food crops containing carotenoids, high fiber, no transfat, etc.
Hunger	Vertical farming or underwater garden	Increase availability of food without the limitations imposed by land
	Precision agriculture	Guide farmers to apply precise amounts of pesticides and fertilizers, thus increasing yield without increasing land use
Animal welfare	Cell-based meat	Eliminate the slaughtering of animals for food
Food safety	Blockchain	Reduction of time needed to identify source of contaminated food
	Cooking robots	Help to cook food to reduce cross contamination by human workers
	Intelligent packaging	Helps to monitor the condition of food and produce antimicrobial compounds that prevent spoilage

The adoption of these novel technologies into the mainstream will ultimately depend on whether there is consumer acceptance and demand, as the food industry will generally try to satisfy such needs.

#### (5-2) Regulatory Challenges for Food Ingredients Produced Through Novel Technologies: An International Perspective

Ashley Roberts, PhD,

Intertek, Canada

The next speaker, Dr. Ashley Roberts from Intertek, provided a different perspective on the adoption of novel technologies, by sharing his talk on “Regulatory Challenges for Food Ingredients Produced Through

Novel Technologies: An International Perspective” . Dr. Roberts explained that a wide range of new technologies have either already been applied or have the potential to be used for the production of new food and food ingredients. These include GM technology, nanotechnology, plant protein-based meat substitutes, as well as cultured meat. Given the rapid development of such technologies, it is a challenge for regulatory authorities to keep pace with these new innovations. While all authorities share similar public health objectives, they may differ significantly when it comes to implementing safety evaluation procedures. This may include differing data requirement for safety assessment, which can ultimately make it challenging for companies to obtain approvals for food ingredient globally. Dr. Roberts then shared several case examples of such differences between regulatory regimes to demonstrate how it could present regulatory challenges for evaluating the safety of novel foods and obtaining approvals for new ingredients:

Topic	Regulatory Issue
Nanotechnology	In the EU, nanoparticles from titanium dioxide were deemed carcinogenic by the French risk assessment agency (ANSES) after conducting a review of studies published by French researchers. However, the European Food Safety Authority (EFSA) reviewed the same studies but came to a different conclusion that there were no safety concerns.
Cultured meat	In the US, it has been proposed that cultured meat products could be regulated under a joint regulatory framework established by the FDA and USDA. In contrast in the EU, such products would be regulated under novel food regulations. However in Australia, while such products would also fall within the scope of novel food, as there is an existing definition for “meat” , there could be challenges for marketing such products as a form of “clean meat” .

Steviol glycosides	Due to the difficulty to extract sufficient steviol glycosides from the leaf to meet demand, new technologies for the production of steviol glycosides including enzymatic bioconversion and fermentation have been developed. However the approval pathways and outcomes in various countries have been quite different: USA – steviol glycosides produced by enzymatic bioconversion and by fermentation GM microbes were easily approved under the GRAS system EU – compared to the US, significant additional data was required for the evaluation of steviol glycosides produced using these novel technologies Canada – the steviol glycosides obtained by enzymatic bioconversion did not need to be re-evaluated for safety the product obtained by fermentation was required to be re-evaluated due to the use of a GM microbe Australia/New Zealand – the steviol glycoside obtained by enzymatic bioconversion was easily approved and the enzymes used for the bioconversion were listed as processing aid. However, the status of the product obtained using fermentation by GM microbes is still unclear.
--------------------	---

(5-3) Case Studies of New Technologies and Their Challenges

Liz A. Specht, PhD,  
The Good Food Institute, USA

The final speak of the session, Dr. Liz Specht from the Good Food Institute, provided an overview of the progress of development of plant-based meat substitutes and cultured meat in her talk on “Case Studies of New Technologies and Their Challenges” . Dr. Specht explained that the primary basis for the development of these alternative meat products were linked to sustainability, but it also included concerns including antimicrobial resistance, zoonosis and food safety. She provided a definition of “plant-based meat” , which are structured plant or fungus derived foods intended to replace animal-based either as standalone products or within recipes. These plant-based meat products have a

fibrillary protein structure that provides desirable meat-like texture. The development of such plant-based meat products utilize supporting technologies, including crop analysis to identify and develop plant crops with desired functionality, taste and as well as “big data” to accelerate the development of next generation products. On the other hand, “cultured meat” or “cell-based meat” are intended to be genuine animal meat that replicates the same sensory and nutritional profiles because the same cell types and same 3D structure are produced. The process of developing these products including first identify the appropriate cell line, proliferate these cells and subsequently differentiate the cells and growing them on “scaffoldings” to produce the desired type of animal meat product. Dr. Specht shared that major conventional meat suppliers have recognized the economic value of these new technologies and invested in many startup companies currently developing these plant-based and cultured meat products. However, Dr. Specht pointed out that there remains many challenges, including regulatory hurdles relating to how such products would be regulated, as well as consumer acceptance for example in relation to the use of GM technology in the production of some of the ingredients used in these products.

(味の素株式会社 Keng Ngee Teoh)

## ◆ Science Session 6: Food Processing & Food Waste: State of Technology

(食品加工と廃棄食品：技術的状況)

(1/11 14:30-16:30)

食品廃棄物低減に向けた新たな技術とチャンスの前向きな作用を検討する。

### (6-1) Relationship between Food Waste, Diet Quality and Environmental Sustainability

(食品廃棄物、食事の品質、環境の持続可能性の関連)

Zach Conrad, PhD, MPH,  
USDA, USA

環境への影響を軽減しながら同時に食事の質を改善することは世界的に重要な課題である。食料の約 30～40%が発展途上国でも先進国でも無駄に消費されていることを考えると、これはやりがいのある取り組みで、低品

質の食は世界的状況である。生ごみとは、農地、肥料や殺虫剤などの農薬、灌漑用水など、それ自体は食べられない、食物生産に使用される資源の総計で、持続可能性の重要な指標である。最近の米国の生ごみの状況分析に、食品廃棄物、食事の質、栄養素廃棄物、及び複数の持続可能性評価基準（農地の利用、灌漑用水、農薬、肥料）の関連性を検討した。その結果、米国の消費者は1日1人当たり1ポンド近くの食料を浪費し、この食料を生産するために毎年3,000万エーカーの農地が使用されていた。これは消費に利用可能な1日のカロリーの30%、消費に利用可能な1日の食料の4分の1（重量ベース）、および年間耕地面積の7%を占めていた。高品質の食事は大量の食品廃棄物、大量の無駄な灌漑用水、殺虫剤と関連していたが、農地廃棄物は少なかった。内容は主に果物や野菜で、健康を増進し、必要な農地は小さいが、かなりの量の農業設備を必要とする。つまり食事の質を改善し、かつ食品の無駄を減らすためには、同時進行の努力が必要である。食品廃棄物低減の実用的な解決策のひとつは、果物や野菜の調理方法や保存方法、そして食料供給のあらゆる段階で、食品廃棄物低減にむけた新しい技術に関する消費者の知識を増やすことである。

### (6-2) Role of Technology to Reduce Food Waste in the Home

(家庭からの食品廃棄物の削減技術の役割)

Gail Tavill, PhD,

Conagra Brands, USA

食品廃棄物の発生源と規模の測定はまだ初歩的であるが、家庭が最大の発生源であることは、ほとんどの研究で一致している。食品の嗜好、習慣、消費者レベルの意識の程度など、これに関連する社会的背景の複雑さを考えると、家庭からの食品廃棄物の低減は技術的介入なしには難しい。食品製造業者の観点から企業は、包装技術、食品保存および加工技術の進歩を通して、何十年もこの役割を果たしてきた。新製品の企画開発以外にも、モバイルアプリ、スマート家電、e-コマースのプラットフォームなどを使った食事のプランニング、在庫管理、調理技術などの面で消費者を支援する“connected-home（家庭関連技術）”の進歩により、家庭での食品廃棄物の削減にテクノロジーを活用できる。非可食部などの廃棄が避けられない場合、ゴミと一緒に廃棄させないで、有機物を効果的に扱えるような技術開発を行うという方向

性もある。

### (6-3) Novel Approaches to Manage Consumer Food Waste for Sustainability

(持続可能性を目指した消費者の食品廃棄物管理の新規アプローチ)

Paul Teng, PhD,

Nanyang Technological University, Singapore

消費者の食品廃棄物 (food waste: FW) は、「農場からフォークへ」のサプライチェーンの複数の点で発生するが、食品の品質と量に対する消費者の嗜好や態度は、サプライチェーンの川下に影響する。消費者 FW は、家庭、飲食店、そして卸売店と小売店で直接的に、そしてサプライチェーンに沿って間接的に発生する。多くのアジアの都市での意識醸成は、うわべの品質と量（ポーションサイズの大きさ）に対する消費者の態度をターゲットにしている。消費者の FW を管理するプログラムでは、一般的に、余分な食物の再利用、FW のリサイクル、環境にやさしい FW の廃棄に取り組んでいる。食品廃棄物の発生防止や最小化は、しばしばアジア社会の一般的な文化的規範に反する。アジアの都市では、任意の福祉団体が売れ残りの食品を貧しい人々に提供して再利用している。FW のリサイクルでは、植物ベースの FW を堆肥化して肥料に転換するなど、多くの国々で革新を実現してきた。最近の斬新な方法は、食料や動物飼料用の昆虫飼育に都市型 FW を使用することである。多くの小規模な新興企業は、FW の処理にバイオ消化装置を使用して、食品小売業者にサービスを提供している。しかし、技術だけでは消費者の FW 管理には不十分で、考え方の変化が必要である。

(ILSI Japan 柳沢 佳子)



# 特定非営利活動法人国際生命科学研究機構 平成 31 年通常総会の報告

ILSI Japan 事務局次長

俵積田 亨

1. 日時 平成 31 年 2 月 21 日 (木) 10:00～11:10

2. 場所 日本橋公会堂 (中央区日本橋蛸殻町)

3. 定足数確認と開会宣言

初めに中村事務局長より、国際生命科学研究機構の平成 31 年総会開催が宣言された。続けて現在の正会員総数 63 名のうち、出席正会員 25 名、書面表決 33 名、表決委任 1 名、合計 59 名が出席 (定款 28 条により出席したものとみなされる) しており、定款第 26 条の定足数に達しており、本総会は成立することが報告された。

4. 会長挨拶

開会に先立ち宮澤会長が挨拶した。

5. 議長選任

中村事務局長より、議長選任に関して、自薦・他薦を含めて呼びかけたが特に無く、事務局より議長候補として株式会社 ADEKA 赤羽丈明氏を推薦したい旨を表明、満場拍手をもって同氏を議長に選任した。

6. 議事録署名人選出

議長が議事録署名人 2 名を選任することを諮り、自薦・他薦を求めたが共に無く、事務局より味の素株式会社 荻原葉子氏、協和発酵バイオ株式会社 森下幸治氏のお二方を推薦したい旨を表明、異議はなく、満場一致でこれを承認した。

7. 審議事項

第 1 号議案 2018 年事業活動報告及び決算報告書案承認の件

第 2 号議案 2019 年事業活動計画及び収支予算書案承認の件

第 3 号議案 定款変更承認の件

8. 審議の経過の概要及び議決の結果

第 1 号議案 2018 年事業活動報告及び決算報告書案承認の件

議長の指名により、中村事務局長および俵積田事務局次長が議案 1 資料「2018 年事業活動報告及び決算報告書案」に基づき事業報告および決算報告を行った。

ILSI Japan General Meeting 2019

TORU TAWARATSUMITA  
Director  
ILSI Japan

引き続き山田雄司監事が監事2名を代表して監査報告を行い、必要な監査手続きにより監査したところ、内容については適正妥当と認めるとの報告をした。

#### 第2号議案 2019年事業活動計画及び収支予算書案承認の件

議長の指名により中村事務局長および俵積田事務局次長が、議案2資料「2019年事業活動計画及び収支予算書案」に基づき事業活動計画および収支予算案の内容を説明した。

#### 第3号議案 定款変更 第3章 役員 第19条

議長の指名により、中村事務局長が議案3資料「定款の変更」に基づいて、変更理由と新旧を対比して説明した。

議長が3議案に関して質疑及び意見を求めたところ、ともになく、採決に入り3議案とも満場一致をもって可決承認された。

議長が、以上をもち予定された審議事項が全て終了したことを宣言し、引続き報告事項の進行を中村事務局長に委ねた。

## 9. 報告事項

### (1) 本部年次総会報告

資料に基づき中村事務局長が1月8日から13日まで米国フロリダ州にて開催された本部年次総会の報告を行った。概要は以下の通り。

本部機関にはILSI Assembly of Members（アッセンブリー）とILSI Board of Trustees（理事会）があり、前者の構成メンバーがインダストリーに偏っているため、インダストリー1名、アカデミア1名の計2名のメンバーを全17支部より選出し計34名で構成すること、また後者は効率よく、フレキシブルな運営が出来るように、構成メンバーを本部費の貢献および地域のバランスを考慮して、北米2名、欧州2名、Research Foundation 2名、東南アジア1名、ラテンアメリカ1名、中国・インド・日本・韓国・台湾のグループから1名、その他1名の計10名の理事に変更することを本部理事会にて決定した。

また、“A Brave New World In Nutrition & Food Safety”と題してILSI 2019 Science Symposiumが開催され、そのうち「セッション1: New Technologies Advancing Accuracy in Food Intake and Physical Activity Assessment」において、東京大学の笹井先生に“Accuracy of wearable devices for estimating total energy expenditure: comparison with metabolic chamber and doubly labeled water method”というテーマで発表していただいた。

また本部総会の開催期間中に、British Medical Journal（英国の権威ある医学雑誌）誌に、コカコーラ社が中国政府の肥満対策の政策決定にイルシー中国事務所を通して影響を与えている、という論文が掲載され、多くの欧米のメディアがそれを参照して記事にした。本部はイルシー共通のステートメントを即座に発信するとともに、論文に対するコメントをホームページに掲載するなど対応を図った。

### (2) その他

- 「健康な食事研究会進捗報告会」を同じ会場で同日午後1時30分より開催するので、会員の参加を呼び掛けた。
- 本年10月1,2日に、国内外の著名な学識者を集めた「栄養とエイジング」国際会議の開催を予定している。会員は奮ってご参加いただき、特別参加費を募集しているので、是非お申込みいただきたいとの連絡をした。

## 10. 閉会宣言

中村事務局長が、これをもって本総会を閉会する旨を宣言した。

## ●会 報●

## I. 会員の異動 (敬称略)

## 評 議 員 の 交 代

交代年月日	社 名	新	旧
2019.1.9	大塚製薬(株)	ニュートラシューティカルズ事業部 大津栄養製品研究所 齋藤 宏	大津栄養製品研究所 戸羽 正道
2019.4.5	味の素食品(株)	製品技術管理部 執行役員 吉井 克宜	クノール食品(株) 開発技術センター 高原 尚
2019.4.9	日清オイリオグループ(株)	中央研究所研究第7課、8課 課長 池田 宣之	中央研究所 所長 上田 善博

## 社 名 変 更

変更年月日	新 社 名	旧 社 名
2019.4.5	味の素食品(株)	クノール食品(株)

## 入 会

入会年月日	所 属	氏 名
2019.3.14	三菱ケミカルフーズ(株)	研究開発センター 主任研究員 関本 訓士

## 退 会

入会年月日	社名
2019.1.30	(株) Mizkan Holdings
2019.2.16	三井製糖(株)

## II. ILSI Japanの主な動き (2019年1月～3月)

\* 会場欄に特記ない場合は ILSI Japan 会議室にて開催

- 1月17日 健康推進協力センター (CHP) : Project PAN (Physical Activity and Nutrition) “身体活動と栄養”  
プロジェクト：テイクテン教室参加経験者による自主サークル スカイテイクテン定例会  
押上オレンジルーム、墨田区
- 1月21日 健康な食事研究会 WG2：惣菜協会を訪問し、これまで訪問した14社も含めて紹介いただいた全企業へ  
進捗報告会の案内を出す許可を得、事務局からメールを出した。

惣菜協会

- 1月21日 ERA 調査報告書第42号発行：遺伝子組換え技術を用いた農業生産への貢献、栄養改善や魚類へのゲノム編集の適用に関する10報の論文を紹介。
- 1月23日 健康な食事研究会 WG3：これまで地方公共団体（県と市）と企業を対象に健康経営の食について調べた9社に関して、成功要因と失敗要因など社会実装の類型化を行った結果を意見交換した。また、インタビュー結果をテキストマイニングで分析し、考察した。
- 1月24日 2019年第1回バイオテクノロジー研究会：ERA 報告書第43号のレビュー：「組換え微生物を用いた高度に精製された添加物・食品の安全性評価の科学的な考え方についてワークショップ」準備状況：ERA 調査報告特別号「日本におけるGM作物のERAの発展」発行の準備状況及び記念講演会の日程及び会場決定：2019 ISBR 国際シンポジウム派遣準備状況。
- 1月25日 健康な食事研究会 WG1：今後の活動は今後の方向性を確認し、サブリーダーの後任を決める。現時点では以下の3つの案。1) これで終わりにする。2) DASH 食や地中海食の健康な食事としての定義と社会実装を調べ、日本食の場合と対比する。3) 健康になる食事の健康の部分を細分化してフレイル、がん、生活習慣病などと栄養素との関係からアプローチする。前年活動の報告書は「イルシー」誌139号へ投稿する。
- 東大医学部予防疫学佐々木研究室
- 1月30日 CHP：PAN：介護予防「らくらく教室」講習会にて講義
- 地域包括支援センター千住本町、足立区
- 1月31日 国際協力委員会  
・委員長、副委員長交代  
・ILSI 本部総会報告  
・2019年 BeSeTo ミーティング  
・本部関連 One ILSI プロジェクト、Mandatory policy 改定  
・ILSI Japan 支部総会説明  
・国際協力委員会の今後の進め方、活動方針
- 2月4日 健康な食事研究会 第7回全体会議  
議題：進捗報告会の内容確認、報告書の公表方法に関して。2019年の活動計画。進捗報告会の報告を「イルシー」誌に執筆するにあたり担当分担の確認。
- 2月6日 第1回理事会  
確認事項（平成31年通常総会の決議事項）  
1. 2018年の活動報告及び決算報告書案  
2. 2019年の活動計画及び収支予算案  
3. 定款変更 第3章 役員 第19条  
報告事項  
1. 本部総会報告  
2. トピック（レピュテーションリスク）
- 2月6日 第8回「栄養とエイジング」国際会議プログラム委員会：2nd サーキュラーを完成。座長就任に関して本人の許諾をいただけた。国際会議の英文プロシーディングスについて、投稿先を Nutrition Reviews 誌に変更することが決定した。
- 2月8日 健康な食事研究会 WG2：中食産業インタビュー1件（14件目）
- インタビュー先
- 2月11日 CHP：Project DIET（Dietary Improvement and Education with TAKE 10!®）“途上国栄養改善と栄養教育”プロジェクト：NJPPP（栄養事業推進プラットフォーム）の委託事業として、インドネシ



アの職場（工場）の栄養改善プロジェクトを推進。本プロジェクトのパートナーである都給食が健康的なメニューの提供を開始。TAKE 10!® check sheet を用いた多様な食材摂取の推奨など栄養啓発活動も実施。

デルタマスシティ、インドネシア

2月13~14日①、27~28日②

CHP：PAN：墨田区委託事業「栄養・口腔講演会」開催。区報で募集（定員20名）、2会場で実施。

<1日目> 口腔ケアに関する講義 高柳篤史先生、栄養に関する講義 ILSI Japan スタッフ

<2日目> 調理実習 協力）森永乳業①、公益社団法人日本缶詰びん詰レトルト食品協会②

すみだ女性センター①、八広地域プラザ②、墨田区

2月14日 健康な食事研究会 WG2：日本生活協同組合のかたを招いてラウンドテーブルミーティングを行った。

2月15日 食品微生物研究部会：MALDI-TOF MS 研究分科会

名城大学田村先生ご参加で情報交換会を実施。

① NITE との共同研究契約を延長し、今後の活動方針を決定。

② 今後の活動方針を確認：i) カビの分析法の手順化・公開、ii) 自家ライブラリ作成方法について島津社と共同研修会を企画、iii) 株レベルでのタイピングの可能性模索。

NITE（製品評価技術基盤機構）、渋谷

2月21日 平成31年通常総会

審議事項

第1号議案 2018年度事業活動報告及び決算報告案

第2号議案 2019年度事業活動計画及び収支予算案

第3号議案 役員の報酬に関する定款変更

3つの議案について承認。

報告事項

2月6日の理事会と同様。

日本橋公会堂

2月21日 健康な食事研究会進捗報告会：104名の参加。当日の参加者及び登録者へアンケートを送付。登壇者の発表資料はILSI Japan ホームページに掲載した。アンケート結果と議事録は会員企業向けに共有した。

日本橋公会堂

2月21日 食品微生物研究部会：チルド勉強会

進捗確認、今後の活動方針を相談。①芽胞の耐熱性試験方法の標準化検討、②低温増殖性ボツリヌス菌の調査の検討。

2月25日 CHP：DIET：NJPPPの委託事業として、カンボジアの職場（工場）の栄養改善プロジェクトを推進。

~3月2日 栄養強化米を用いた介入試験に関し、人間総合科学大学 中西先生、Reproductive and Child Health Alliance（RACHA）により end-line study を実施。

プノンベン、カンボジア

3月4日 ILSI Japan AAT プロジェクト第1回定例会議：①腸管吸収 WG、反復投与毒性試験および生殖発生毒性試験のデータベース構築 WG の進捗報告、② LSI Europe と協働での国際ワークショップを企画中。プログラム委員7名、開催日程（2020年10月22日（木）-23日（金））を決定。

3月4~6日 CHP：PAN：古賀町社会福祉協議会委託事業として、①古賀町民が出演するテイクテンに関するビデオを作製。②講演会「サロンにおけるテイクテンの活用」実施。サロンボランティア70名参加。

古賀町福祉センター、島根県

3月6日 食品微生物部会：第1回部会全体会議

各分科会の進捗報告、今後の活動方針を相談。

大田区民ホール・アブリコ（蒲田）

3月6日 食品微生物部会 NGS プロジェクトの締めくくりとして「2019 公開シンポジウム－ NGS の食品安全への展望」（参加費 3000 円）を開催。最終参加者 119 名。

大田区民ホール・アブリコ（蒲田）

3月7日 ISO/TC34/SC16 ワークショップの準備会議：ワークショップは 11 月 22 日に決定。農研機構及び Crop Life International からの予算を検討、外国人演者 3 名を招聘予定。テーマは新しい表示法における GM ゼロ表示を担保する分析法について。

3月7日 CHP：PAN：津和野町シルバー人材センター委託事業として、島根大学とのコラボレーションでイベント「しまだいチェック 7（セブン）&つわの TAKE10 !®（テイクテン）」を開催（内容：体組成／骨密度／動脈硬化度／歩行速度／脚力の測定、テイクテンと食生活チェック表説明）、60 名参加。

小川公民館体育館、津和野町、島根県

3月8日 CHP：PAN：テイクテンリーダー研修、15 名参加。

津和野町シルバー人材センター会議室、島根県

3月8日 栄養研究部会：第 8 回「栄養とエイジング」国際会議のスケジュールとタスクリストを共有。部会員の分担内容、「栄養とエイジング」国際会議の報告を「イルシー」誌に投稿する際の形式の確認をした。健康な食事研究会も含めて分担体制を検討。

3月11日 第 2 回バイオテクノロジー研究会：ERA 報告書第 44 号のレビュー：「組換え微生物を用いた高度に精製された添加物・食品の安全性評価の科学的な考え方についてワークショップ」準備状況：ERA 調査報告特別号「日本における GM 作物の ERA の発展」発行の準備状況及び記念講演会の準備状況：2019 ISBR 国際シンポジウム派遣準備状況。

3月14日 ERA 調査報告書第 43 号発行：遺伝子組換え技術に関連した最近の研究事例、ゲノム編集技術の取り扱いやリスク評価に関する欧州専門グループの記事等 10 報を紹介した。

ERA 調査報告特別号「日本における GM 作物の ERA の発展」の発行。

3月18日 「組換え微生物を用いた高度に精製された添加物・食品の安全性評価の科学的な考え方についてワークショップ」厚生労働省医薬・三橋康之氏、明治大学農学部農芸化学科 教授 中島春紫氏、協和発酵バイオ(株) 森下幸治が講演。44 名が参加。

明治大学駿河台キャンパス

3月22日 第 8 回「栄養とエイジング」国際会議のプログラムヘッドラインと 1st サークュラー、及び Sponsors を ILSI Japan ホームページにアップした。

3月22日 CHP：DIET：NJPPP 第 12 回運営委員会において、インドネシアおよびカンボジアの職場の栄養改善に関する study の結果を報告。

三会堂ビル 9 階石垣記念ホール、東京

3月26日 健康な食事研究会 WG3、健康経営優良企業である某社を訪問し、企業内で健康経営に資する活動を継続する成功例をヒアリングできた。

## Ⅲ. 発刊のお知らせ

### 栄養学レビュー (Nutrition Reviews® 日本語版) 第 27 巻第 2 号 通巻 103 号 (2019/WINTER)

腸内細菌—腸—脳軸

最新知見と展望

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 7*

[巻頭論文]

腸内マイクロバイオームと脳機能の関係

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 5*

[特別論文]

米ぬか成分の抗炎症作用

[特別論文]

2 型糖尿病患者における低レベル慢性炎症に対するビタミン D 介入効果

の系統的レビューおよび無作為化対照試験のメタ解析

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 6*

[最新科学]

タンパク質補助食品の摂取を食事中にするか食間にするかが、レジスタンス運動による成人の身体組成変化に与える影響：系統的レビュー

[最新科学]

胎児のエピジェネティックプログラミングと発育に及ぼす妊娠中のメチル供与栄養素摂取の重要な役割

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 7*

[最新科学]

乳清タンパク質の補充が女性の身体組成の変化に及ぼす影響：系統的レビューおよびメタ解析

定価：本体 2,100 円 (税別)

\* ILSI Japan 会員には毎号 1 部無料で配布いたします

\* その他購入方法

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



## IV. ILSI Japan 出版物

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

下記以前の号については ILSI Japan ホームページをご覧ください。

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

### ○ 定期刊行物

#### 【イルシー】

##### イルシー 137 号

- ・ ILSI Japan CHP と私
- ・ 健康長寿を支える骨格筋と食品成分
- ・ 運動と栄養による動脈硬化の改善効果
- ・ 油と腸内フローラから考える健康科学の新展開
- ・ 健康寿命延伸につながる食事
- ・ 食品をはじめとする化学物質の安全性確保において動物実験がなぜ「まだ」必要なのか？
- ・ < 研究所紹介 >  
山崎製パングループの研究開発体制：21 世紀の食の最先端と文化創造への挑戦
- ・ 東京大学 ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」主催シンポジウム  
「機能性食品科学の基盤から実用化に至る統合的成果と新たな息吹き」レポート
- ・ < ILSI の仲間たち >  
第 10 回 BeSeTo 会議

##### イルシー 136 号

- ・ ILSI 副会長に就任して：個人史の振り返りと将来への期待
- ・ 遺伝子組み換え植物の安全性評価における次世代シーケンサーの活用状況について
- ・ NAFLD/NASH における脂質の関与に関する最近の知見
- ・ 化学物質や医薬品などの安全性評価に用いる動物実験代替法の技術開発の現状と展望
- ・ < 研究所紹介 >  
ロート製薬の研究開発の中核基地「リサーチビレッジ京都」の研究紹介  
健康づくりで社会に貢献するために「アイケア」、「スキンケア」、「食品」そして「再生医療」に挑戦
- ・ ILSI Japan バイオテクノロジー研究会 ERA 勉強会
- ・ < フラッシュ・レポート >  
第 9 回 ILSI Japan ライフサイエンスシンポジウム  
「健康寿命の延伸につなげる栄養科学と運動科学の融合」  
——基礎研究から応用研究まで——



【栄養学レビュー (Nutrition Reviews® 日本語版)】

## 栄養学レビュー 第27巻第2号 通巻第103号 (2019/WINTER)

腸内細菌—腸—脳軸

最新知見と展望

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 7*

【巻頭論文】

腸内マイクロバイオーームと脳機能の関係

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 5*

【特別論文】

米ぬか成分の抗炎症作用

【特別論文】

2型糖尿病患者における低レベル慢性炎症に対するビタミンD介入効果の系統的レビューおよび無作為化対照試験のメタ解析

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 6*

【最新科学】

タンパク質補助食品の摂取を食事中にするか食間にするかが、レジスタンス運動による成人の身体組成変化に与える影響：系統的レビュー

【最新科学】

胎児のエピジェネティックプログラミングと発育に及ぼす妊娠中のメチル供与栄養素摂取の重要な役割

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 7*

【最新科学】

乳清タンパク質の補充が女性の身体組成の変化に及ぼす影響：系統的レビューおよびメタ解析

## 栄養学レビュー 第27巻第1号 通巻第102号 (2018/AUTUMN)

熱量算定における消化率の重要性

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 4*

【特別論文】

食品の真の熱量算定に関する食品マトリクスと消化の役割

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 2*

【特別論文】

グルコースとショ糖が気分に及ぼす影響：介入試験の系統的レビュー

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 3*

【最新科学】

神経疾患における認知障害の予防と治療のための食事の可能性

*Nutrition Reviews® Volume 76, Number 4*

【特別論文】

コーチとアスリートのためのグリコーゲン代謝の基礎

【特別論文】

小児期の植物性食品中心の食事による成人期の心血管代謝の健康改善

## ○ 安全性

	誌名等	発行年月	注文先
研究委員会報告書	加工食品の保存性と日付表示—加工食品を上手においしく食べる話— 〔ILSI・イルシー〕別冊Ⅲ	1995. 5	
研究部会報告書	食物アレルギーと不耐症	2006. 6	
ILSI Japan Report Series	食品に関わるカビ臭（TCA）その原因と対策 A Musty Odor (TCA) of Foodstuff: The Cause and Countermeasure （日本語・英語 合冊）	2004.10	
ILSI Japan Report Series	食品の安全性評価のポイント	2007. 6	
ILSI Japan Report Series	清涼飲料水における芽胞菌の危害とその制御	2011.12	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	ADI 一日摂取許容量（翻訳）	2002.12	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	食物アレルギー	2004.11	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	毒性学的懸念の閾値（TTC） —食事中に低レベルで存在する毒性未知物質の評価ツール—（翻訳）	2008.11	
その他	ビタミンおよびミネラル類のリスクアセスメント（翻訳）	2001. 5	
その他	食品中のアクリルアミドの健康への影響（翻訳） （2002 年 6 月 25～27 日 FAO/WHO 合同専門家会合報告書 Health Implication of Acrylamide in Food 翻訳）	2003. 5	
その他	好熱性好酸性菌— <i>Alicyclobacillus</i> 属細菌—	2004.12	建帛社
その他	<i>Alicyclobacillus</i>	2007. 3	シュプリンガー・ ジャパン
その他	毒性学教育講座 上巻	2011.12	
その他	毒性学教育講座 下巻	2015. 1	

## ○ バイオテクノロジー

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

## ○ 栄養・エイジング・運動

	誌名等	発行年月	注文先
国際会議講演録	栄養とエイジング（第 1 回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	1993.11	建帛社
国際会議講演録	高齢化と栄養（第 2 回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	1996. 4	建帛社
国際会議講演録	長寿と食生活（第 3 回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	2000. 5	建帛社
国際会議講演録	ヘルスプロモーションの科学（第 4 回「栄養とエイジング」国際会議講演録）	2005. 4	建帛社
国際会議講演録	「イルシー」No. 94 ＜特集：第 5 回「栄養とエイジング」国際会議講演録＞ ヘルシーエイジングを目指して～ライフステージ別栄養の諸問題	2008. 8	

国際会議講演録	Proceedings of the 5th International Conference on "Nutrition and Aging" (第5回「栄養とエイジング」国際会議講演録 英語版) CD-ROM	2008.12	
国際会議講演録	「イルシー」No. 110 ＜特集：第6回「栄養とエイジング」国際会議講演録＞ 超高齢社会のウェルネス—食料供給から食行動まで	2012. 9	
栄養学レビュー特別号	ケログ栄養学シンポジウム「微量栄養素」—現代生活における役割	1996. 4	建帛社
栄養学レビュー特別号	「運動と栄養」—健康増進と競技力向上のために—	1997. 2	建帛社
栄養学レビュー特別号	ネスレ栄養会議「ライフステージと栄養」	1997.10	建帛社
栄養学レビュー特別号	水分補給—代謝と調節—	2006. 4	建帛社
栄養学レビュー特別号	母体の栄養と児の生涯にわたる健康	2007. 4	建帛社
研究部会報告書	パーム油の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅰ）	1994.12	
研究部会報告書	魚介類脂質の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅱ）	1995. 6	
研究部会報告書	畜産脂質の栄養と健康（「ILSI・イルシー」別冊Ⅳ）	1995.12	
研究部会報告書	魚の油—その栄養と健康—	1997. 9	
ILSI Japan Report Series	食品の抗酸化機能とバイオマーカー	2002. 9	
ILSI Japan Report Series	「日本人の肥満とメタボリックシンドローム —栄養、運動、食行動、肥満生理研究—」（英語版 CD-ROM 付）	2008.10	
ILSI Japan Report Series	「日本の食生活と肥満研究部会」報告	2011.12	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	油脂の栄養と健康（付：脂肪代替食品の開発）（翻訳）	1999.12	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	食物繊維（翻訳）	2007.12	
その他	最新栄養学（第5版～第10版）（“Present Knowledge in Nutrition”邦訳）		建帛社
その他	世界の食事指針の動向	1997. 4	建帛社

## ○ 糖類

	誌名等	発行年月	注文先
国際会議講演録	国際シンポジウム 糖質と健康 (ILSI Japan 20 周年記念国際シンポジウム講演録・日本語版)	2003.12	建帛社
国際会議講演録	Nutrition Reviews -International Symposium on Glycemic Carbohydrate and Health (ILSI Japan 20 周年記念国際シンポジウム講演録)	2003. 5	
ILSI Japan Report Series	食品の血糖応答性簡易評価法（GR 法）の開発に関する基礎調査報告書	2005. 2	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	炭水化物：栄養と健康	2004.12	
ILSI 砂糖モノグラフシリーズ	糖と栄養・健康—新しい知見の評価（翻訳）	1998. 3	
ILSI 砂糖モノグラフシリーズ	甘味—生物学的、行動学的、社会的観点（翻訳）	1998. 3	
ILSI 砂糖モノグラフシリーズ	う触予防戦略（翻訳）	1998. 3	
ILSI 砂糖モノグラフシリーズ	栄養疫学—可能性と限界（翻訳）	1998. 3	
その他	糖類の栄養・健康上の諸問題	1999. 3	

## ○ 機能性食品

	誌名等	発行年月	注文先
研究部会報告書	日本における機能性食品の現状と課題	1998. 7	
研究部会報告書	機能性食品の健康表示—科学的根拠と制度に関する提言—	1999.12	
研究部会報告書	上記英訳 “Health Claim on Functional Foods”	2000. 8	
ILSI Japan Report Series	日本における機能性食品科学	2001. 8	
ILSI Japan Report Series	機能性食品科学とヘルスクレーム	2004. 1	
ILSI ヨーロッパモノグラフシリーズ	プロバイオティクス、プレバイオティクスと腸内菌叢（翻訳）	2014. 9	

## ○ CHP

	誌名等	発行年月	注文先
TAKE10!®	「いつまでも元気」に過ごすための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」冊子第5版	2014. 3	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」の かんたんごはん	2008. 2	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」の かんたんごはん 2	2008. 2	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」の かんたんごはん 2 冊セット	2008. 2	
TAKE10!®	高齢期における介護予防のための運動・栄養プログラム「TAKE10!®」DVD 基礎編＋応用編（2 枚組）	2009. 4	



## 編集後記

「平成最後の」という言葉を昨年から度々聞くようになった。勿論これは、本年5月1日の新天皇即位とともに改元され、本年が平成最後の年になることからである。31年続いた平成だが、思い起こせば本当に様々な出来事があった。そこで筆者の独断で、平成に起こった心に残る出来事を3つ選んでみた。

まず平成元年からの消費税の実施である。今では普通になってしまったが、当時、店頭の値札と支払額が違うという、それまでに無かった経験に戸惑った覚えがある。迫り来る高齢化社会の財源を確保する事が1つの目的であったが、3%で始まり、その後5%、8%と増え、本年度から10%になる予定である。将来にわたり、この税金が有効に使われることを願う。

次に平成13年9月11日に起きた、米国同時多発テロを思い出す。私ごとで恐縮だが、その2日前の9月9日に米国に赴任したばかりで、朝からテレビで航空機がワールドトレードセンターに衝突するシーンをライブで見ていた。当日午後には公共機関がすべて閉まり、田舎の小さな空港でさえも完全に閉鎖され、戦争が始まるとの噂と共にガソリンスタンドには多くの車が列をなすといった大変な騒ぎの中、米国での生活が始まった。ご存知の通り、その後アフガニスタン紛争、イラク戦争へと続くことになった。

最後に、平成に起きたいくつもの自然災害を忘れることは出来ない。平成2年の雲仙普賢岳噴火災害、5年の北海道南西沖地震、7年の阪神淡路大震災、19年の新潟県中越沖地震、23年の東日本大震災、26年の御嶽山噴火、28年の熊本地震、そして昨年30年に起きた、大阪府北部地震、西日本豪雨、北海道胆振東部地震と、平成の間だけでも大変多くの犠牲者、被害者を出し、未だその復興の道半ばの被災地も多い。いつ、どこで発生するかわからない自然災害に対して、他人ごとでは無く、十分な準備を整えておくことを心掛けたい。

以上が私の心に残る平成の出来事だが、もちろん喜ばしく、嬉しいニュースも数多くあった。新たな元号を迎え、楽しい、微笑ましい出来事が数多く起きることを心から期待したい。

(HN)

イルシー  
**ILSI** JAPAN No.138

---

2019年5月 印刷発行

特定非営利活動法人

**国際生命科学研究機構 (ILSI JAPAN)**

会 長 宮澤 陽夫

理事長 安川 拓次

〒102-0083 東京都千代田区麹町3-5-19

にしかわビル5階

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

ホームページ <http://www.ilsijapan.org/>

印刷：日本印刷(株)

---

( 無断複製・転載を禁じます )

- The Present and Future of Functionality of Foods in Japan
- Japan-EU Economic Partnership Agreement: Sanitary and Phytosanitary Measures and Food Safety Aspects
- Action of Fatty Acid Esters on Thermophilic Anaerobic Spore-forming Bacteria *Moorella thermoacetica* Spores
- Evidence of Physical Activity Guideline (Active Guide) for Health Promotion
- Physical Activity and Diet for Brain Function
- Knowledge of Gut Microbiota for a Healthy Lifestyle
- Ectopic Fat and Insulin Resistance
- Development of Microbiological Quality Control Methods in Unpasteurized Beer Production
- Organ-on-a-chip Microdevices for Drug Efficacy and Toxicity Testing
- 〈Research Institute of ILSI Japan Members〉  
Meiji Co., Ltd. “Meiji Innovation Center”
- Report of the 40th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses
- Report from ILSI Annual Meeting 2019
- ILSI Japan General Meeting 2019