

ISSN 1340-2676

岐阜県保健環境研究所報

第 10 号
平成 14 年

Report of Gifu Prefectural Institute
of Health and Environmental Sciences
No.10, 2002

岐阜県保健環境研究所

Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences

目 次

< 総 説 >

- ・キノコに存在する有用性物質 1
木方 正

< 論 文 >

- ・岐阜県内河川底質中のダイオキシン類 15
安田 裕, 村瀬秀也, 大平武俊

< 資 料 >

- ・岐阜県内河川における内分泌攪乱化学物質の実態について 21
春日洋二, 村瀬秀也
- ・岐阜県民の破傷風・ジフテリアに対する抗体保有状況 25
野田伸司, 猿渡正子, 青木 聡, 所 光男, 山崎嘉久, 山本直人, 住 亮一, 西松 浩
- ・廃羽毛からのタンパク質の抽出とその利用 29
青木 聡, 所 光男

< 他誌掲載論文 > 35

< 学 会 発 表 > 43

CONTENTS

<REVIEW>

- Useful Substances Occurring in Mushroom 1
Tadashi KIHIO

<ORIGINAL ARTICLE>

- PCDD/PCDF and Co-PCB Contamination Levels in River Sediments in Gifu Prefecture 15
Yutaka YASUDA, Hideya MURASE, Taketoshi OHIRA

<REPORT>

- Monitoring of Endocrine Disrupting Chemicals in Nagara and Ibi River 21
Yoji KASUGA, Hideya MURASE
- Seroepidemiological Survey for Tetanus and Diphtheria in the Gifu Prefectural Population. II
Antibody Levels for Diphtheria 25
Nobuji NODA, Seiko SAWATARI, Satoru AOKI, Mitsuo TOKORO, Yoshihisa YAMAZAKI,
Naoto YAMAMOTO, Ryouiti SUMI, Hiroshi NISHIMATSU
- Recovery of Protein from Waste Feather 29
Satoru AOKI, Mitsuo TOKORO

<PUBLICATION> 35

<PRESENTATION> 43

キノコに存在する有用性物質

木方 正

要 旨

本総説は、(1→3)-β-D-グルカン類の構造的特徴、性質、抗腫瘍活性、及び食物繊維の概略、そして数種のキノコの特徴的な性質について記述している。抗腫瘍性(1→3)-β-D-グルカン類は高次構造を有し、免疫賦活作用がある。また、キノコの食物繊維量は比較的多い。多糖類やトリテルペノイドなどの有用物質がシイタケ、マイタケ、アガリクス茸、マンネンタケ、ヤマブシタケ、ヒラタケ、ウスヒラタケ、タモギタケの子実体及び培養液より得られている。キノコのような菌類質を食べることは地球における菌類、動物、植物間における循環の観点からも必要であり、そして薬用並びに食用キノコは我々の健康にとって役に立つ。

キーワード：キノコ、β-D-グルカン、食物繊維、抗腫瘍活性、免疫賦活

1 はじめに

我国は戦中、戦後の食糧難の時代から飽食の時代となり、病気は結核などの感染症から糖尿病、高脂血症などの生活習慣病が多くなってきた。食品は量(カロリーの確保)から質(おいしい)へ、そして質と調和の時代といわれる時代となった。すなわち、食品の一次機能(栄養機能)、二次機能(味覚機能)から三次機能(生体調節作用)が注目されるようになり、ヒトの健康維持増進において食べ物の内容に関心が高まってきた。ヒトの免疫力・自然治癒力を高めて病気になりにくくすることが健康にとって基本であり、国の歳出において大きな比重を占めつつある医療費を抑制する観点からも重要である。

このような背景から有用性(機能性)物質を含み、脂質含量が少ないキノコが注目されている。地球上の自然界は植物、菌類、動物の三者の循環によって成り立ち、その中で生命が受け継がれている。このうちキノコが属する菌類は不要になった植物、動物を利用し、それらを別の形にして元の形に戻したり、有用な物質を産みだしている。ヒトは植物、動物の他に菌類であるキノコを食(利用)することが必要である(菌食論)¹⁾。

キノコは世界中に数千種、日本には約1500種自生、そのうち100種ほどが食用になる。そのうち一般に市場に出回っているキノコの種類は意外と少ない。日本

人にはマツタケ(松茸 *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing.) が味覚の王者としてあり、これと異なった形、色のものは敬遠されがちであった。中国では古くから漢方として薬用に供されてきた。ブクリョウ(茯苓 *Poria cocos* (Fr.) Wolf)、チョレイ(猪苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries)、トウチュウカソウ(冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.)、ライガン(雷丸 *Polyporus mylittae* Cook. et Mass)、シロキクラゲ(銀耳 *Tremella fuciformis* Berk.) など多くある²⁾。マンネンタケ(靈芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.) などが抗癌作用があるとして使われている。その他にはチャーガ(*Inonotus obliquus* (Fr.) Bond. et Sing.) についてロシアのノーベル賞作家ソルジェニーツインの「ガン病棟」にこれを服用して自然治癒すると記載されている例などがあり、キノコの薬用効果についての研究は大きな関心が寄せられている³⁾。これらの抗癌(腫瘍)作用は、免疫系に作用してヒトの生物学的反応を調節して生体防御機構を高めるものとされており、BRM(biological response modifier 生物学的応答調節剤)に属している⁴⁾。BRMは、免疫系を増強して癌などに対する抵抗性を高めると考えられている。

一般にキノコは、糖質の代謝を助けるビタミンB₁や脂肪の燃焼に役立つビタミンB₂を、骨粗鬆症を防ぐのに必要なカルシウムの腸管からの吸収をよくする

ビタミンDの前駆体であるエルゴステロール類を豊富に含み、ミネラルでは野菜と同様にナトリウムを排出するカリウムを多く含む。今回は抗腫瘍作用を示すことで注目されている(1→3)-β-D-グルカン、第6の栄養素といわれている食物繊維について概説し、担子菌類の同担子菌亜綱に属するキノコは多いが、次にそのいくつかについて生物活性物質を中心に比較的新しい学術文献に基づいて紹介する。

2 (1→3)-β-D-グルカン

2.1 構造と性質

(1→3)-β-D-グルカンはβ-D-グルコースが1位と隣接するグルコースの3位で結合し、そのような糖鎖が重合した化学構造をとり、この多糖は一般にはβ-D-グルカンあるいはβ-グルカンと省略されることが多い。ちなみに、地球上に最も多く存在する有機物であるセルロースはβ-D-グルコースが1位と4位で結合して重合したものである。キノコが癌に効くという民間伝承に基づき、昭和40年代に国立がんセンターのグループが種々のキノコの熱水抽出物について抑癌(Sarcoma 180の腫瘍)マウスを用いて検討した結果、コフキサノコシカケ(*Elfvigia applanata* (Pars.) Karst.), メシマコブ(*Phellinus yucatensis* (Murr.) Imazeki), アラゲカワラタケ(*Coriolus hirsutus* (Fr.) Quel.), さらに食用キノコであるシイタケ(*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.), ヒラタケ(*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer), エノキタケ(*Flammulina velutipes* (Fr.) Karst.), マツタケ(*Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing.)などに強い抗腫瘍活性がみられた⁵⁾。そこで大量に入手しやすいシイタケについて研究した結果、活性本体はβ-グルカンに属するβ-(1→6)で分岐した(1→3)-β-D-グルカンであると解明された⁶⁾。その後、本グルカンはレンチナンと命名されて医薬品(胃癌に適用)として開発された。スエヒロタケ(*Schizophyllum commune* Fr.)の菌体外に産生される(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンであるシゾフィランも医療用(子宮頸癌に適用)に使われている⁷⁾。活性構造相関の研究より、分岐していない直鎖状の(1→3)-β-D-グルカンには活性がなく、これに側鎖(糖鎖でなくてもカルボキシメチル基などでもよい)を導入すると活性が発現することが示された⁸⁾。また、分岐の割合も活性に関係し、レンチナンではグルコース残基5個に2個の分岐、シゾフィランではグルコース残基3個に1個の分岐であり(図1左)、こ

の程度の分岐度が抗腫瘍活性との関係でよいことが示された⁹⁾。さらに、活性β-D-グルカンをNMR、電子顕微鏡、X線によって解析した結果、右巻き三重らせん状の高次構造を有することが解明された(図1右)¹⁰⁾。しかし、活性には一重らせんが必要との報告もある¹¹⁾。直鎖状のβ-D-グルカンでもカルボキシメチル化されるとCMPSのように活性が高まる¹²⁾。一方、著者らは、ヤナギマツタケ(*Agrocybe cylindracea* (Fr.) Maire)及びベニテングタケ(*Amanita muscaria* (Fr.) Hooker)の子実体から水に溶けなくて抗腫瘍活性を示さない(1→3)-α-D-グルカンをそれぞれ単離したが、これに側鎖としてカルボキシメチル基を導入すると活性が発現し、免疫賦活作用を有する興味深い結果を得ている^{13, 14)}。図2にベニテングタケの(1→3)-α-D-グルカン(AM)及びそのカルボキシメチル化体(AM-CM)の抗腫瘍活性(Sarcoma 180)を(1→3)-β-D-グルカンのカルボキシメチル化体であるCMPSを陽性コントロールとして示している。

一般に(1→3)-β-D-グルカン類は水には溶けにくく、キノコの子実体から熱水の強い条件(数時間)で抽出されてくるが、熱水抽出残渣もアルカリ条件(室温, 1 M NaOHなど)で抽出するとさらに多くの

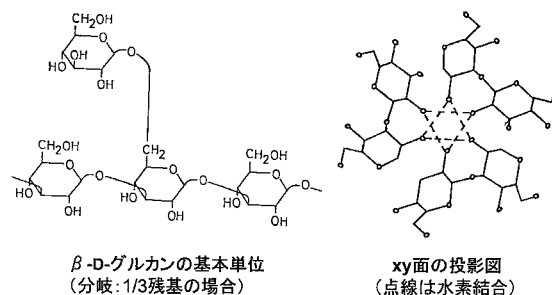


図1 β-D-グルカンの構造

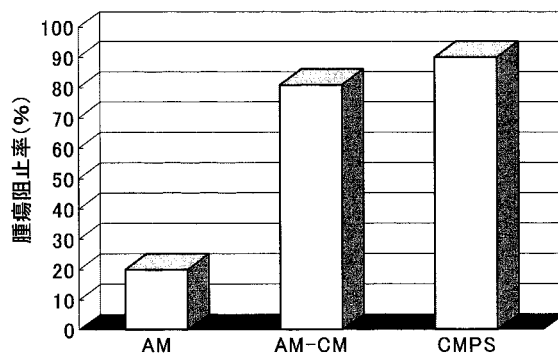


図2 α-D-グルカン(AM)とそのカルボキシメチル化体(AM-CM)の抗腫瘍活性

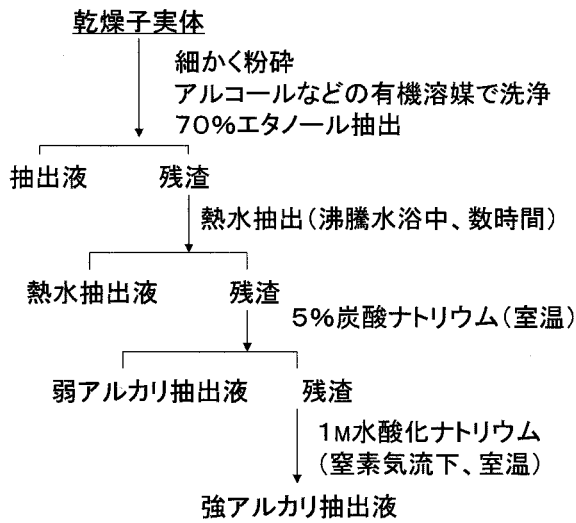


図3 β-D-グルカンの抽出方法の例

グルカンが抽出されてくる(図3)。しかし、アルカリ条件ではグルカンの還元末端より分解していく(peeling現象)恐れがあるので、実験的には窒素気流下あるいは還元剤の水素化ホウ素ナトリウムで還元末端のグルコースを糖アルコールにして抽出する処置がとられる。アルカリ抽出液は希塩酸で中和後に透析して塩、単糖などの低分子物質を除去する。透析内液をエタノール沈殿やイオンカラムクロマトグラフィー等で精製、単離し、通常は凍結乾燥によって仕上げる。(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンの溶解度はその分岐度が高まったり、側鎖のグルコース鎖が一個でなく長鎖になれば水溶性は向上する。しかし、活性は高次構造のとりやすさと関係してくるが、水溶性が低い状態ではグルカンの抗腫瘍作用も弱い。これらグルカンの分子量は、一般に分布が広く、高分子量(約50万~200万)である。表1に示すように、活性(1→3)-β-D-グルカンを熱処理(150℃で時間を変化)によって低分子化して1万以下にしたり¹⁵⁾、ギ酸で処

表1 β-D-グルカンの分子量と抗腫瘍作用

加熱時間	分子量	阻止率(%)	完全退縮
0時間	800,000	98	10匹中5匹
0.5時間	250,000	99	9匹中6匹
1.3時間	110,000	98	10匹中5匹
2時間	40,000	97	10匹中6匹
3時間	21,000	99	10匹中9匹
6時間	6,400	45	なし
9時間	<6,400	19	なし
12時間	<6,400	-6	なし

理して重合度(DP)を50以下にすると¹⁶⁾、活性は低下、消失する。これは抗腫瘍活性に必要な高次構造をとりにくいためと説明されている。

2.2 抗腫瘍作用と作用機構

マウスにSarcoma 180の固形腫瘍を移植後、翌日から(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンを111数mg/kg、10日間腹腔内に連続投与すると約1月後には、生理食塩水のみを投与した対照群では腫瘍が大きくなり死亡したりするが、本グルカンを投与した場合は腫瘍が小さくなるか消失する⁵⁾。この作用の特徴は、化学療法剤のように腫瘍細胞に直接には作用しなくて宿主仲介性の免疫賦活作用であり、効果がみられるようになるまで日数を要すること、大量の投与では逆に作用が低下して至適投与量が存在すること(図4)、制癌剤のような副作用がないことである。そしてマウスの系統によって効果に差があり、腫瘍免疫の存在が明らかにされているが、生体側の種々の条件によってその機能が十分に発揮されない場合があることが考えられる。実際に市販のレンチナンに対する感受性は患者によって異なり、効く患者とそうでない患者がいることも事実である¹⁷⁾。

抗腫瘍性β-D-グルカンは、主に網内皮系細胞(白血球、マクロファージなど)を刺激して非特異的に宿主の防御機構を高めたり、ナチュラルキラー(NK)細胞、細胞傷害性T(CTL)細胞の活性化など複雑な免疫系のネットワークに作用し、宿主の免疫応答系に影響を与えることが知られている¹⁸⁾。その作用機序は複雑で種々な回路を経るが、主要な経路を図5に示す。β-D-グルカンを健康食品的に利用するには、経口投与による有効性が求められ、この面での研究が期待される。宿前らは抗腫瘍性β-D-グルカンの経口投与によって、NK細胞及び腹腔並びに肺胞マクロファージ(酸性ホスファターゼ、貪食、殺菌など)の活性化、IgA産成増強などの粘膜免疫賦活作用が示

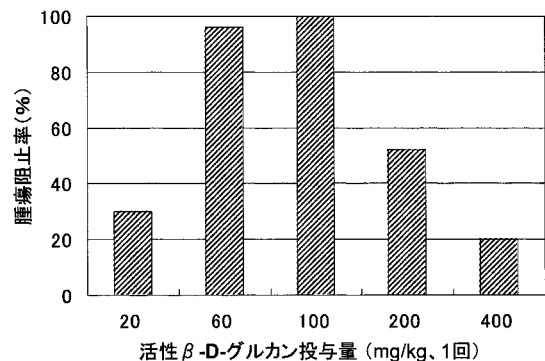


図4 β-D-グルカンの投与量と抗腫瘍活性の関係

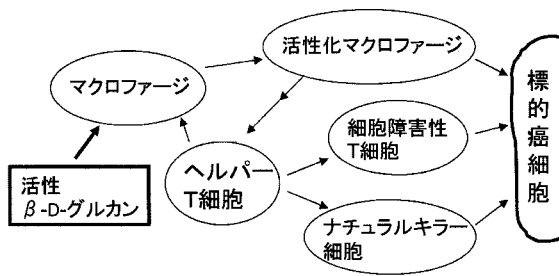


図5 β-D-グルカンの作用機序の一例

されることを報告している⁹⁾。

活性β-D-グルカンの作用は宿主仲介性免疫賦活作用によることから、宿主（投与されるヒト）の状態によって効果発現が影響されるが、生体の調節機能を高めることから制癌化学療法剤のように正常細胞まで傷害を及ぼすことがなく、大きな副作用は観察されず安全性の高いものである。また、著者らはベニテングタケから単離した(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンを制癌剤(マイトマイシンC: MMC)と併用することによって、抗腫瘍作用が強くなり、MMCの副作用である白血球数減少を改善する作用があることを明らかにした¹⁰⁾。シイタケのレンチナンでは5-フルオロウラシル系の薬物との併用でも良い結果が報告されている¹⁷⁾。

活性β-D-グルカンは副作用によって患者のQOL (Quality of Life) が損なわれることがないのが特徴である。しかし、これは多く摂るほど効果が上がるというわけではなく、前述したように至適投与量が存在する。経口による場合は、純粋にβ-D-グルカンのみに精製したものでは溶解性が悪いので蛋白質などの他の成分と混ざった状態の方がよい。このようなことからキノコの乾燥子実体で1日数グラムを、なるべく水に溶けやすい形で継続的に摂ることが必要である。

生のキノコ保存中に含まれている抗腫瘍性β-D-グルカン(レンチナンなど)がどのような影響を受けるかについての研究報告がある。キノコ中の本グルカンは、キノコを低温で保存した場合はほとんど変化しないが、20℃で7日間以上の保存では著しい減少及び抗腫瘍活性に関係するマクロファージ活性化の低下などの影響が観察される²⁶⁾。このようにキノコは自己分解酵素によって分解を受けやすいので、生では新鮮なものを使用することが薦められる。

2.3 血管内皮細胞増殖抑制因子の誘導

近年、抗腫瘍性の(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンあるいはカルボキメチル化(1→3)-β-D-

グルカン(CMPSあるいはCMCD)を腹腔内投与した担癌マウスの血清を別の担癌マウスに投与した場合、血清を注射されたマウスの腫瘍組織内の腫瘍細胞が急激に減少することが認められ、国元らは抗腫瘍性グルカンによって血清中に誘導される非サイトカイン系血清因子として腫瘍退縮因子を報告した²²⁾。腫瘍移植2週間後のマウスに抗腫瘍性グルカンを腹腔内投与し、その16時間後の血清を他の担癌マウスに静脈注射すると腫瘍細胞を急激に減少させる因子のことであり、図6にCMPSとヤナギマツタケの(1→3)-α-D-グルカンのカルボキシル化体(AG-CM)の結果を示す。F井らは、制癌剤マイトマイシンを化学的に結合させた(1→3)-β-D-グルカン誘導体は、活性並びに副作用軽減の観点からも有効であることを明らかにした²³⁾。痛が増殖、転移していくときには血管新生が観察され、これを抑制することによって癌の治療に導かせようとする研究がされている。抗腫瘍性グルカンは血管内皮細胞には直接影響を与えなかったが、マウス腹腔マクロファージやマウス白血球細胞から血管内皮細胞増殖抑制活性を示す因子(EGSF)が分泌され、これが腫瘍退縮活性も有することを明らかにした^{24, 25, 26)}。このEGSFは血管内皮細胞増殖抑制活性因子であるIL-1a, IL-6, TNF-αなどの既知のものではないことが示唆された。EGSFは糖タンパク性因子で、さらに好中球やマクロファージの遊走能を亢進させることなどが明らかにされ、EGSFについての更なる解明、癌治療薬としての開発が今後期待される²⁷⁾。

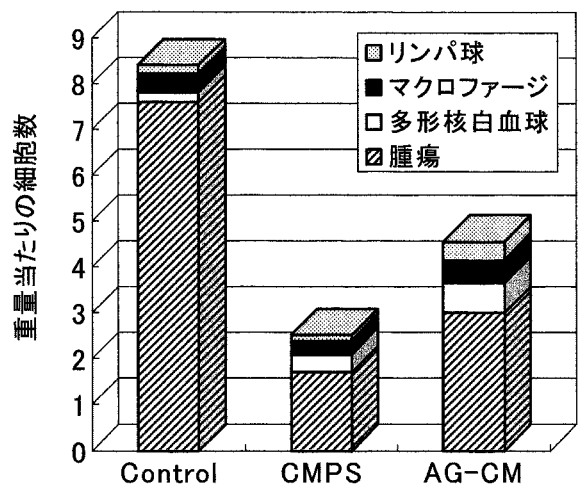


図6 腫瘍退縮因子による腫瘍細胞組成の変化

3 食物繊維

3.1 食物繊維の定義と分類

食物繊維は「ヒトの消化酵素で消化されない食品成分」と現在定義されており²⁹⁾、実際には多糖類が多い。デンプンは消化酵素によってブドウ糖まで分解されて小腸より吸収され肝臓に運ばれて利用されるが、食物繊維はヒトの消化酵素で分解されずに腸内の不要なものと一緒に排泄されていくか、あるいは一部が腸内細菌によって利用分解されて短鎖脂肪酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸など)を生じ、これが腸内でヒトにとってよい働きをすといわれている。

食生活の欧米化に伴い、肉、乳製品を食べる量は増加し、癌では大腸・直腸癌、乳癌が増加してきた。一方、豆類、イモ類、海藻類、野菜の摂取の割合は減少し、さらに精白化した米を食するようになり食物繊維の必要性が高まった。現在、成人1日の食物繊維所要量は20~25gとされている²⁹⁾。食物繊維を多く含むものは海藻類(昆布、ヒジキ、ワカメなど)、豆類(おから、納豆など)、そしてキノコ類がある(図7)。重量100g当たり、生シイタケで4gほど、乾燥シイタケではその10倍ほど含んでいる。

食物繊維は以下に示すように水溶性のものと不溶性のものに大別できる。

【水溶性食物繊維】 ねばりけ、ヌルヌル成分

- 果物、野菜：水溶性ペクチン
- 海藻類：アルギン酸ナトリウム
- 豆類：グァガム
- こんにゃく：グルコマンナン
- サメのひれ：コンドロイチン硫酸
- 合成品：ポリデキストロース

【不溶性食物繊維】 水に溶けないもの

- 豆類、野菜、穀類のふすま、米ぬか：セルロース、ヘミセルロース

- ココア、豆類、穀類のふすま：リグニン
- ゴボウ、キクイモ：イヌリン
- 寒天：アガロース、アガロペクチン
- エビやカニの殻：キチン(キトサンは脱N-アセチル処理したもの)
- 動物の腱や肉：コラーゲン

キノコには一般にヘミセルロース、リグニン、グルカンなど不溶性食物繊維が多いが、キクラゲのようなゼリー状のキノコには水溶性食物繊維が多く含まれる。キノコの傘部と柄の部分との食物繊維量はほとんど相違はない。

3.2 食物繊維の働き

水溶性食物繊維の働きとして、ゲルの中に糖分を包みこんだりして小腸での栄養素の吸収を遅らせることにより、血糖値の上昇を抑制する。不溶性食物繊維はカサ効果(便の量増加、蠕動運動の促進)で排便促進して有毒物質も排出する。腸内細菌がタンパク質、脂質を餌にすると腐敗菌などの悪玉菌が増加しやすいが、食物繊維及び生じた短鎖脂肪酸がビフィジス菌などの善玉菌を増やして腸内細菌叢を改善したり(整腸作用)する。これら食物繊維は低カロリーで満腹感を与えやすいこと、果物に存在するカルボキシル基などを有するペクチン並びにキクラゲ(*Auricularia auricula-judae* (Fr.) Quel.)などのキノコに多く存在する酸性ヘテログリカンなどの水溶性食物繊維はナトリウムイオン(塩分)を吸着して排泄する作用がある。さらに、キノコに含まれる(1→3)-β-D-グルカン類は、消化されないので広義には食物繊維の範ちゅうであり、ヒトの免疫機能を向上させる。

以上のようなことより、食物繊維は糖尿病、動脈硬化、高脂血症、便秘、大腸癌、肥満などの予防、改善に役立つといわれている。

4 各種キノコ

4.1 シイタケ(椎茸)

シイタケ(*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.)は広葉樹の枯れ幹や切り株などにはえるが、日本、中国などで人工栽培され生品や乾燥品が市販されており、生産量も多く最もポピュラーなキノコである。*edodes*は「江戸の」という意味で1875年にイギリスの調査隊が日本から持ち帰りこのような学名がつけられた。シイタケの旨味成分として5'-グアニル酸(5'-GMP)のヌクレオチドがあり、干シイタケの煮出しにより酵素(リボヌクレアーゼ)が働いてそれが蓄積して旨味が増大することが知られている。これがコンブなどに含

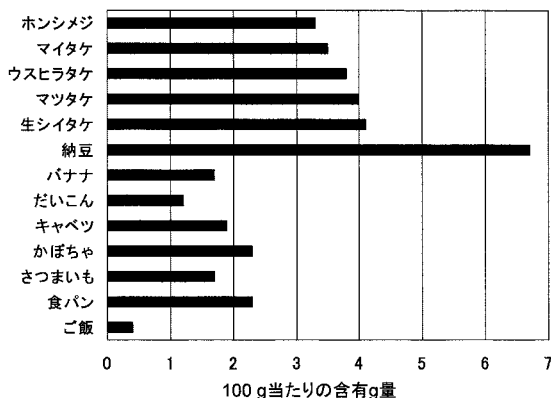


図7 食物繊維量の比較

まれているグルタミン酸と合わさると味の相乗効果がある。シイタケの β -D-グルカンは免疫賦活作用、抗腫瘍作用だけでなく、各種の細菌、ウイルス、寄生虫などの感染症に対しても治療効果があることが報告されている^{2, 30}。以下に、 β -D-グルカン以外に明らかにされていることについて紹介する。

シイタケ菌糸体の培養液から得たキシロースに富むヘテログリカン・タンパク質画分が、マウス脾臓細胞のインターフェロン γ などの産成を誘導し、抗腫瘍性に関連する免疫応答を増すこと³⁰、さらに培養抽出液が単純ヘルペスウイルスに対してその複製を阻害することにより抗ウイルス作用を示す³¹。シイタケの溶液を15日間マウスに経口投与した後、アルキル化剤（N-エチル-N-ニトロソウレアなど）を注射した実験系において、シイタケはアルキル化剤による変異原性を阻害する作用がある³²。乾燥シイタケをクロロホルム、酢酸エチル、水で順次抽出し、それらの画分はストレプトコッカス、アクチノミセス属などに対する抗菌作用を有する物質があること及び各画分の熱安定性について検討している³³。

シイタケ子実体の80%エタノール抽出液より血清コレステロールを低下させる物質として「エリタデニン」が単離されている^{2, 30}。エリタデニンは2(R), 3(R)-ジヒドロキシ-4-(9-アデニル)酪酸であることがわかり、その作用は摂取したコレステロールの排出促進と代謝分解の促進である。また、エリタデニンがラットの実験において肝臓のリン脂質代謝に影響を与えていることも本作用の機序になっていることが報告されている³⁰。本物質はシイタケの柄よりも傘の部分に多く含まれているが、他のキノコには含まれていないとされている。

シイタケの水抽出物に活性酸素補足・消去作用があることがみだされ、この活性物質が熱に比較的安定である抗酸化性タンパク質であることが示されている³⁰。

4.2 マイタケ（舞茸）

マイタケ (*Grifola frondosa* (Fr.) S.F. Gray) は日本の山岳地帯をはじめ、北半球温帯以北に自生し、広葉樹のミズナラなどの老人木の根元に群生する。高級キノコとして珍重されてきたが、近年、おがくずを基材とした菌床を用いる瓶栽培が盛んとなり、市場に多く出回るようになった。

宿前らは子実体及び培養菌糸体より抗腫瘍活性を示す(1→6)分岐(1→3)- β -D-グルカン（グリフォランと命名）を単離し、その活性構造相関など詳

細に報告している³¹。これはマクロファージを活性化させ腫瘍壊死因子（TNF）を産生することなどを明らかにしている³⁰。一方、難波らはマイタケ子実体の抽出画分の1つであるD-フラクシオン（ β -D-グルカン）が細胞性免疫を活性化させて抗腫瘍作用を示すこと³⁰、癌の血管新生にも影響を与えることを報告している³⁰。また、D-フラクシオンの抗腫瘍活性に導くことの1つとして誘導型一酸化窒素合成酵素（iNOS）の誘導があることも示している⁴⁰。さらに、マイタケの β -D-グルカンが前立腺癌細胞に対してアポトーシスを引き起こし、この効果はビタミンCによって増強されるとし、前立腺癌の代替治療になりうることを示唆している⁴¹。

マイタケの乾燥子実体を5%を添加した餌をラットに2週間食べさせた結果、ガラクトサミンによる肝障害を防ぐ効果がある⁴²。

マイタケの乾燥子実体1日1gを遺伝的糖尿病（インスリン非依存型、II型）のマウスに経口的に与えた結果、対照群に比較して血糖値が有意に低下した。その作用物質としてペプチドグリカンのX-フラクシオンをあげている³⁰。また、ストレプトゾトシンによって糖尿病（インスリン依存型、I型）に誘導したラットに対するマイタケの血糖降下作用は糖耐性の改善にあるとしている⁴⁰。

高コレステロール食を摂取させたラットを用いた実験系で、マイタケを20%含む餌を摂取させた場合に抗高脂血症作用が観察された。この結果は脂質代謝を促進して、高脂肪食の摂取による肝臓並びに血清中の脂質の増加を抑制していることに起因する⁴⁰。また、マイタケ（50g/kg）を4週間ラットに摂らせた場合、同条件下でのセルロース摂取の場合と比較して血清中のコレステロール値の低下がもたらされたが、これは糞中へのコレステロール排泄が促進されることによると考察している⁴⁰。

4.3 アガリクス茸

マッシュルーム（フランス語：シャンピニオン）の名前で親しまれ欧米で最も多く食用にされているツクリタケ (*Agaricus bisporus* (J. Lange) Pilat) の仲間も多く、その一種がアガリクス茸 (*Agaricus blazei* Murill, 和名 カワリハラタケ) であり、ヒメマツタケ（姫松茸）ともいわれる。ブラジル・サンパウロ郊外の高地ピエーダ地区の住民には癌、成人病の発生率が低く、調査によって昔から食用にしていたこの地方特有のキノコが注目された。1965年に現地の日系人から日本に種菌がもちこまれ、研究された。こ

のキノコは人工栽培は困難であったが、長い研究開発を経て可能になり、大量に供給できるようになった。動物実験によって高い抗腫瘍作用が認められ^{47, 48)}、一般向けの本などで紹介されたこともあり⁴⁹⁾、これを原料とした健康食品の市場は大きなものとなっている。このキノコは生では自己分解が速く、口持ちがしないので乾燥品あるいはその加工品が市販されているが、培養菌糸体製品も健康食品として販売されている⁵⁰⁾。

アガリクス茸の乾燥子実体より単離した水溶性の中性多糖体やグルカン-タンパク質複合体に宿主仲介性の抗腫瘍作用があることが示された。この構造をNMRなどで解析した結果、シイタケのレンチナンなどが(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンであるのに対して、β-(1→3)結合は少なくβ-(1→6)結合の多いグルカンであるのが特徴である^{47, 48)}。一方、このキノコの熱水抽出物を経口的にマウスに投与すると、免疫系のヘルパーT細胞や細胞障害性T細胞などが増加し、その活性多糖体は主にα-(1→6)グルカンとα-(1→4)のグルカンであるとの報告もある⁵¹⁾。また、このキノコから得た(1→4)-α-D-グルカン・β-(1→6)-D-グルカン複合体は分子量が2万であり、正常細胞には影響を及ぼさないが同系の癌細胞(Meth A)に対して強い傷害性を示し、これが顆粒球(白血球のうち好中球や好酸球などをいう)の活性化によること⁵²⁾、さらにこの複合体を含んだ可溶性のプロテオグリカンが腫瘍細胞に対してアポトーシスを誘導ことも明らかにされている⁵³⁾。

アガリクス茸の脂質成分が、癌細胞の転移、増殖に密接に関与している癌細胞による血管新生を阻害し、抗腫瘍作用を示し、これは本キノコに含まれているエルゴステロールによるとの研究報告もある⁵⁴⁾。

本キノコ子実体の熱水抽出液を経口投与した場合の効果に関する論文を次に紹介する⁵⁵⁾：高血圧自然発症ラットにおいて8週齢から投与した場合は16週齢以降に顕著に血圧が降下してきた。アトピー性皮膚炎の患者(ステロイド外用剤を併用しているヒト及び併用していないヒト)が熱水抽出液(子実体1口3~5g)を服用した結果、すべてにおいて皮疹の軽減が観察された。また、糖尿病患者も飲用開始3ヶ月後には改善がみられた。

培養菌糸体の抽出物が抗ウイルス(WEEウイルス)活性を示したが、子実体からの抽出物では活性がなかったとする実験結果もある⁵⁶⁾。

キノコの抽出物は、V17細胞に対してそのものは変異原は示さず、メチルメタンスルホン酸塩を用いた抗

変異原試験の結果、抗変異原活性を有することが明らかにされている⁵⁷⁾。

4.4 マンネンタケ

マンネンタケ(*Ganoderma lucidum* (Fr.) Krast)は、サルノコシカケ科に属するキノコで、その子実体を霊芝ともいい、近縁種に日本型はマゴシヤクシ(*Ganoderma japonicum* (Fr.) Lloyd または *Ganoderma neo-japonicum* Imaz.)がある。霊芝は漢方薬(強壯、鎮静薬など)で上薬にランクされており、日本でも古く「日本書紀」に記載されており、種々の疾病に民間薬として使用されてきた。現在もその薬理作用について世界的に多くの研究がなされている。また、日本ではマンネンタケというように縁起の良い菌物にもなっている。

本キノコ子実体の抗腫瘍活性物質として(1→3)-β-D-グルカンを含むいくつかのヘテログリカンが得られており、宿主仲介性のBRM物質とされている。本子実体は組織が堅いのでアルカリ抽出によって多くの活性(1→3)-β-D-グルカンが単離される。子実体及び菌糸体の液体培養によって菌体外に産出される(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカン(分岐度1:3~6)がシイタケのレンチナンと同様な抗腫瘍活性を有することが示されている^{58, 59)}。免疫活性を示す多糖としてこのようなグルカンとヘテログリカンが本子実体から単離されている⁶⁰⁾。

このキノコから得たいくつかのタンパク結合多糖類について抗ウイルス(ヘルペス単純ウイルス)活性を試験した結果、酸性プロテオグリカン(タンパク質7.8%, 多糖40.6%)が最も高い活性を有することが示された⁶¹⁾。

熱水抽出液より単離したプロテオグリカン(ganoderan B, C)をマウスに腹腔内投与すると、血糖降下作用を示し、この多糖部分は(1→6)結合したβ-D-グルコースの側鎖を有する分岐(1→3)-β-D-グルカンであることが判明した⁶²⁾。

本キノコの成分としてトリテルペノイドがあり、ganoderic acid A, B, C~Zなど多くの化合物が単離同定されている。水溶性抽出液をテルペンと多糖画分に分け、脂質過酸化などに対する抗酸化作用を調べたところ、テルペン画分に高い活性がみられた。この画分にはganoderic acid A, B, C, D, lucidenic acid Bそしてganodermannotriolが多く含まれている⁶³⁾。マンネンタケの孢子から単離したganoderic acid, lucidumol B, ganodermanondiol, ganodermanontriol, ganolucidic acidがヒト免疫不全ウイルス(HIV)-

1 プロテアーゼに対して有意な活性を示すことが明らかにされている⁶⁹。また、子実体から単離したganoderiol F, ganodermanontriolに強い抗HIV-1活性があることも見いだされた⁶⁹。

マンネンタケの新規なトリテルペノイドがいくつか同定され、それらが腫瘍細胞 (Meth-A, LLC, P388 など) に対して細胞障害性を示す (抗腫瘍作用) ことがin vitroの実験で示されている^{66, 67}。さらに、抗炎症作用、鎮痛作用、肝保護作用などがあることも知られている。

4.5 ヤマブシタケ

ヤマブシタケ (*Hericium erinaceum* (Fr.) Pers.) は、ブナ・ナラ・カシの立ち木及び腐木にはえ、日本全土、北半球の温帯以北に広くみられる食用キノコである。学名はその形よりハリネズミの意味であり、和文名は山伏が着る衣の胸につける飾りに似ていることから猴頭茹 (猴の一種) の子供の頭に似ていることから猴頭茹 (ホウトウクウ) と呼ばれている。近年、ビンなどを用いる菌床栽培法が確立され、季節に関係なく市場に供給されるようになった⁶⁸。

本キノコ子実体を有機溶媒 (エタノールやアセトン) で抽出し、抽出エキスを各種クロマトグラフ法によって精製した結果、ヘリセノン類 (ヘリセノンA~H) 及びエリナシン類 (エリナシンE, F, H, Iなど) が単離された。アルツハイマー型痴呆症との関連から脳の海馬に存在する神経細胞の生合成誘導促進物質としての神経成長因子 (NGF) が注目されている。NGFは神経細胞の前駆体が分裂、増殖を繰り返して神経細胞になる過程で重要な役割を担っている。このキノコのヘリセノン類とエリナシン類にNGFの合成を誘導促進させるものがあることが発見され (図8)、ヤマブシタケが脳を若く保ち、痴呆になるのを防ぐものとして期待されている^{68, 69}。さらに、エリナシンH, Iがヤマブシタケの培養菌糸体からも単離されている⁷⁰。

腫瘍細胞 Hela-229 の増殖抑制作用を示す物質を検索したところ、熱水抽出液には認められず、エタノールあるいはアセトン抽出画分のヘリセノンAとBが強い活性を示した⁷¹。他方、ヤマブシタケ子実体の熱水

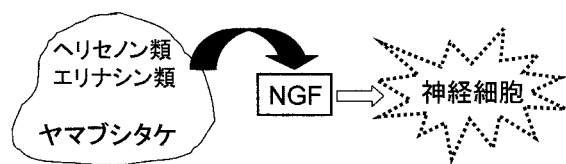


図8 ヤマブシタケ成分による神経成長因子(NGF)合成誘導促進作用

抽出等画分から単離された多糖類が、経口投与によっても腫瘍 (Sarcoma 180) 増殖抑制効果を示した。活性多糖はマンノース, キシロース等を含むヘテロβ-D-グルカン類であり、これらは他のキノコとは化学構造において異なるものだが、BRMとしての特性 (生体恒常効果: ホメオスタシス) を有している⁷²。

4.6 ヒラタケ属のキノコ

食用キノコで人工栽培によって生産量が増えてきたキノコにキシメジ科に属するキノコがある。この科にはシイタケ, ホンシメジ (*Lyophyllum decastes* (Fr.) Sing.) などの食用キノコがあるが、そのうちヒラタケ (*Pleurotus*) 属のヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer), ウスヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel), タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* (Pers.) Rolland) について紹介する。

Manziらはヒラタケ, ウスヒラタケなどのキノコのβ-D-グルカン量を酵素法 (lichenase, β-glucosidase) によって測定した結果、ウスヒラタケ>ヒラタケ>シイタケの順に多く含まれていることを報告している⁷³。

ウスヒラタケは飛騨地方で「ひじり茸」の名称で売られ岐阜県で出荷量の多いキノコである。これらキノコの液体培養によって菌体外にもβ-D-グルカンを産出するが、そのメチル化分析の結果から求めた構成糖残基の存在比を表2に示している⁷⁴。この結果より、ヒラタケ属のβ-D-グルカンの構造はお互いに類似の構造を有していることが解る。

タモギタケは表面は淡黄色~淡褐色のキノコで広葉樹の枯れ木, 切り株にかたまってはえ、類似の毒菌はなく、古くから食用にされている。三崎らは、ウスヒラタケとタモギタケの子実体のアルカリ抽出液よりそれぞれ (1→6) 分岐 (1→3)-β-D-グルカンを単離し、これらがマウスの実験で強い抗腫瘍作用を示すことを報告している⁷⁵。タモギタケはナイアシン (欠乏すると皮膚障害, 精神障害), 遊離アミノ酸などが多く含まれるのが特徴である。

ヒラタケは人工栽培の量が世界的にシイタケに次い

表2 ヒラタケ属が産生する菌体外多糖の構造

結合様式	存在モル比 (%)		
	ヒラタケ	ウスヒラタケ	タモギタケ
Glc(1→	29	30	28
→3)Glc(1→	49	43	46
→3,6)Glc(1→	21	27	26

で多いキノコであり、「シメジ」として市場にでている。このキノコから抗腫瘍性(1→6)分岐(1→3)-β-D-グルカンが単離されている⁷⁶⁾。このβ-D-グルカンを10%混ぜた飼料をジメチルヒドラジンで前癌状態にしたラットに与えると、10%セルロースの場合と比較して肝臓の活性酸素の消去酵素であるSOD (superoxide dismutase) 活性とグルタチオンペルオキシダーゼ (glutathione peroxidase) 活性は上昇し、結腸の癌の進行は有意に抑制されることが示されている⁷⁷⁾。

樹木の成分である芳香族高分子のリグニンは、地球上で最も難分解性の天然高分子である。ヒラタケ、ウスヒラタケなどのPleurotus属のキノコはこのリグニンを酵素的に分解する能力が高く、非特異的に芳香族化合物を攻撃し、生じた断片を細胞内に取り込み、さらに分解する。このためダイオキシン類、内分泌攪乱物質(環境ホルモン)などの芳香族環境汚染物質の分解への実用的な応用と研究が展開されている^{78, 79)}。例えば、PCB市販品(Delcor 103)をヒラタケ菌は2ヶ月で40%除去し⁸⁰⁾、またトリアジン系除草剤のウスヒラタケによる分解はマンガンによって高められる⁸¹⁾。さらに、農業的廃棄物をPleurotus属のキノコによって家畜の飼料などの有用物質にするバイオを利用した応用も試みられている⁸²⁾。

5 まとめ

菌類質とはシイタケ、マツタケなどの食用キノコ及びみそ、しょうゆ、納豆、チーズ、ヨーグルトなどのように菌類の働きを利用した食物のことである。無機物から有機物を合成する植物と、これを分解して元の無機物に戻す動物と菌類があり、これら三者の循環の生態系において安全、安心で健康によい菌類質であるキノコを食して自分の健康をつくることは重要である。

今回紹介したように、キノコはヒトの免疫機能を高める成分を含み、しかも現代人に不足しがちな食物繊維を多く含む低カロリーな食べ物であり、加えて、特筆すべき有用物質も含む。キノコは栽培された土壌成分や水の影響を受けやすいので、いわゆる「きれいな環境」で栽培された食用キノコを一度に多く摂ることより、食する機会を多くして生活習慣病などの疾病の予防、健康の維持増進に役立たせることが望まれる⁸³⁾。

文 献

1) 今関六也, 本郷次雄: きのこと, 107, 127, 保育社, 1973.

- 2) 水野 卓, 川合正允 編: キノコの化学・生化学, 学会出版センター, 1992.
- 3) Wasser S. P., Eis A.: Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspective, *Int. J. Medicinal Mushrooms*, **1**, 31-62, 1999.
- 4) Brekhahman I. I.: Man and biologically active substances, Pergamon Press, 1980.
- 5) 千原呉郎: 癌と免疫療法, 講談社サイエンティック, 1980.
- 6) Chihara G., Hamuro J., Maeda Y., Arai Y., Fukuoka F.: Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom), *Cancer Res.*, **30**, 2776-2781, 1970.
- 7) 小島 進, 門脇豊一: シゾフィラン, ファルマシア, **23**, 169-172, 1987.
- 8) Chihara G., Hamuro J., Maeda Y., Arai Y., Fukuoka F.: Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman), *Nature*, **225**, 943-944, 1970.
- 9) 宿前利郎: 真菌β-1, 3-グルカンの構造と生物活性, 薬学雑誌, **120**, 413-431, 2000.
- 10) Bluhm T. L., Sarko A.: Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. V. Crystal structures of two polymorphs of pachyman triacetate, *Biopolymers*, **16**, 2067-89, 1977.
- 11) Saito H., Miyata E., Sasaki T.: A ¹³C-nuclear magnetic resonance study of gel forming (1→3)-β-D-glucans. Evidence of the presence of single-helical conformation in a resilient gel of a curdlan-type polysaccharide 13140 from *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes*, *Biochemistry*, **16**, 908-914, 1977.
- 12) Sasaki T., Abiko N., Nitta K., Takasuka N., Sugino Y.: Antitumor activity of carboxymethylation of (1→3)-β-D-glucan from *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* IFO 13140, *Europ. J. Cancer*, **15**, 211-215 1979.
- 13) Kiho T., Yoshida I., Nagai K., Ukai S., Hara C.: (1→3)-β-D-glucan from an alkaline extract of *Agrocybe cylindracea*, and antitumor activity of its O-(carboxymethyl)ated derivatives, *Carbohydr. Res.*, **189**, 273-

- 279, 1989.
- 14) Kiho T., Yoshida I., Katsuragawa M., Sakushima M., Usui S., Ukai S. : Polysaccharides in fungi XXXIV. A polysaccharide from the fruiting bodies of *Amanita muscaria* and the antitumor activity of its carboxymethylated product, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 1460-1462, 1994.
 - 15) Adachi Y., Ohno N., Ohsawa M., Oikawa S., Yadomae T. : Change of biological activities of (1 → 3)-β-D-glucan from *Grifola frondosa* upon molecular weight reduction by heat treatment, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 477-481, 1990.
 - 16) Sasaki T., Abiko N., Sugino Y., Nitta K. : Dependence on chain length of antitumor activity (1 → 3)-β-D-glucan from *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* IFO 13140, and its acid-degraded products, *Cancer Res.*, **38**, 379-383, 1978.
 - 17) 須賀哲也 : レンチナン, 日本薬剤師会雑誌, **52**, 65-68, 2000.
 - 18) 千原昌郎 : 抗癌剤の現状と将来, 特に生薬薬理の観点から, 薬学雑誌, **108**, 171-186, 1988.
 - 19) Kiho T., Katsuragawa M., Nagai K., Ukai S., Haga M. : Structure and antitumor activity of a branched (1 → 3)-β-D-glucan from the alkaline extract of *Amanita muscaria*, *Carbohydr. Res.*, **224**, 237-243, 1992.
 - 20) Minato K., Mizuno M., Terai H., Tsuchida H. : Autolysis of lentinan, an antitumor polysaccharide, during storage of *Lentinus edodes*, shiitake mushroom, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1530-1532, 1999.
 - 21) Mizuno M. : Anti-tumor polysaccharides from mushrooms during storage, *Biofactors*, **12**, 275-281, 2000.
 - 22) Kunimoto T., Baba H., Nitta K. : Rapid tumor regression caused by antitumor polysaccharide and induction of tumor-regressing factor in the serum of tumor-bearing mice, *J. Biol. Response Mod.*, **5**, 160-167, 1986.
 - 23) Usui S., Tomono Y., Sakai M., Kiho T., Ukai S. : Preparation and antitumor activity of β-(1 → 6) branched (1 → 3)-β-D-glucan derivatives, *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1630-1636, 1995.
 - 24) Usui S., Matsunaga T., Ukai S., Kiho T. : Growth suppressing factor for endothelial cells induced from macrophages by carboxymethylated curdlan, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 1924-1925, 1997.
 - 25) Usui S., Matsunaga T., Ukai S., Kiho T., Hirano K. : Growth suppressing factor for endothelial cells exhibits tumor regressing activity, *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 353-359, 1999.
 - 26) Usui S., Matsunaga T., Ukai S., Kiho T., Hirano K. : Activation of macrophages and neutrophils by an endothelium growth suppressing factor, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 1228-1237, 1999.
 - 27) 松永俊之, 臼井茂之, 木方正, 平野和行 : マウス白血病細胞 P3881D1 由来血管内皮細胞増殖因子, 岐阜薬科大学紀要, **49**, 33-44, 2000.
 - 28) 馬場忠雄, 辻川和辻 : 食物センシ, 医学のあゆみ, **173**, 400-403, 1995.
 - 29) 厚生労働省 : 第6次改訂 日本人の栄養所用量, 1999.
 - 30) Hikino Y., Konishi Y., Koike J., Tabata T., Ohashi Y., Sugano N. : Production of interferon-gamma and nitrite are induced in mouse splenic cells by heteroglycan-protein fraction from culture medium of *Lentinus edodes* mycelia, *Immunopharmacology*, **28**, 77-85, 1994.
 - 31) Sakar S., Koga J., Whitley R. J., Chatterjee S. : Antiviral effect of the extract of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia on the replication of herpes simplex virus type 1, *Antiviral Res.*, **20**, 293-303, 1993.
 - 32) de Lima P. L., Delmanto R. D., Sugui M. M., da Eira A. F., Speit G., Ribeiro L. R. : *Lentinus edodes* (Berk.) Pegler (Shiitake) modulates genotoxic and mutagenic effects induced by alkylating agents in vivo, *Mutation Res.*, **496**, 23-32, 2001.
 - 33) Hirasawa M., Shoji N., Neta T., Fukushima K., Takada K. : Three kinds of antibacterial

- substances from *Lentinus edodes* (berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom), *Int. J. Antimicrob. Agents*, **11**, 151-157, 1999.
- 34) Chibata I., Okumura K., Takeyama S., Kotera K. : Lentinacin : a new hypocholesterolemic substance in *Lentinus edodes*, *Experientia*, **25**, 1237-1238, 1969.
- 35) Sugiyama K., Akachi T., Yamakawa A. : Hypocholesterolemic action of eritadenine is mediated by a modification of hepatic phospholipid metabolism in rats, *J. Nutr.*, **125**, 2134-2144, 1995.
- 36) 井上正康 編 : 活性酸素と医食同源, 240-245, 共立出版, 1996.
- 37) Ishibashi K., Miura N. N., Adachi Y., Ohno N., Yadomae T. : Relationship between solubility of grifolan, a fungal 1, 3- β -D-glucan, and production of tumor necrosis factor by macrophages in vitro, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1993-2000, 2001.
- 38) Inoue A., Kodama N., Nanba H. : Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the control of the T lymph node Th-1/Th-2 proportion, *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 536-540, 2002.
- 39) Matsui K., Kodama N., Nanba H. : Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the carcinoma angiogenesis, *Cancer Lett.*, **172**, 193-198, 2001.
- 40) Sanzen I., Imanishi N., Takamatsu N., Konosu S., Mantani N., Terasawa K., Tazawa K., Odaira Y., Watanabe M., Takeyama M., Ochiai H. : Nitric oxide-mediated antitumor activity induced by the extract from *Grifola frondosa* (maitake mushroom) in a macrophage cell line, RAW264. 7, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **20**, 591-597, 2001.
- 41) Fullerton S. A., Samadi A. A., Tortorelis D. G., Choudhury M. S., Mallouh C., Tazaki H., Konno S. : Induction of apoptosis in human prostatic cancer cells with β -D-glucan (maitake mushroom polysaccharide), *Mol. Urol.*, **4**, 7-13, 2000.
- 42) Lee E.W., He P., Kawagishi H., Sugiyama K. : Injury by mushrooms in rats, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2001-2004, 2000.
- 43) Kubo K., Aoki H., Nanba H. : Anti-diabetic activity present in the fruit body of *Grifola frondosa* (Maitake) I., *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 1106-1110, 1994.
- 44) Horino H., Ohtsuru M. : Maitake (*Grifola frondosa*) improve glucose tolerance of experimental diabetic rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo), **47**, 57-63, 2001.
- 45) Kubo K., Nanba H. : Anti-hyperliposis effect of maitake fruit body (*Grifola frondosa*). I., *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 781-785, 1997.
- 46) Fukushima M., Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K., Nakano M. : Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats, *Exp. Bio. Med.*, **226**, 758-765, 2001.
- 47) Mizuno T., Hagiwara T., Nakamura T., Ito H., Shimura K., Sumiya T., Asakura A. : Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake," the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2889-2896, 1990.
- 48) Mizuno T., Inagaki R., Kanao T., Hagiwara T., Nakamura T., Ito H., Shimura K., Sumiya T., Asakura A. : Antitumor activity and some properties of water-soluble hetero-glycans from "Himematsutake," the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2897-2905, 1990.
- 49) 水野 卓 : 食べて治す「がん」の特効食, 青春出版, 1996, など.
- 50) 川村賢司 : アガリクスのすべてがわかる本, 主婦と生活社, 2002.
- 51) Mizuno M., Morimoto M., Minato K., Tsuchida H. : Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 434-437, 1998.
- 52) Fujimiya Y., Suzuki Y., Katakura R., Ebina T. : Tumor-specific cytotoxic and immunopotentiating effects of relatively low

- molecular weight products derived from the basidiomycetes, *Agaricus blazei* Murill, *Anticancer Res.*, **19**, 113-118, 1999.
- 53) Fujimiya Y., Suzuki Y., Oshima K., Kobori H., Moriguchi K., Nakashima H., Matumoto Y., Takahara S., Ebina T., Katakura R. : Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycetes, *Agaricus blazei* Murill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis, *Cancer Immunol. Immunother.*, **46**, 147-159, 1998.
- 54) Takaku T., Kimura Y., Okuda H. : Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action, *J. Nutr.*, **131**, 1409-1413, 2001.
- 55) 松垣宮都, 江口文陽, 渡辺泰雄 : 薬理活性を有するヒメマツタケの安定栽培法と効能, *日薬理誌*, **110**, 98-103, 1997.
- 56) Sorimachi K., Ikehara Y., Maezato G., Okubo A., Yamazaki S., Akimoto K., Niwa A. : Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells in vitro, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1645-1647, 2001.
- 57) Menoli R. C., Mantovani M. S., Ribeiro L. R., Speit G., Jordao B. Q. : Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murill extracts on V79 cells, *Mutat. Res.*, **496**, 5-13, 2001.
- 58) 水野 卓, 加藤尚美, 塚篤史, 竹中一秀, 新海健吉, 清水雅子 : マンネンタケ (霊芝) の水溶性多糖類の文画, 構造, 抗腫瘍活性について, *農化*, **58**, 871-880, 1984.
- 59) Sone Y., Okuda R., Wada N., Kishida E., Misaki A. : Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*, *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 2641, 1985.
- 60) Bao X. F., Wang X. S., Dong Q., Fang J. N., Li X. Y. : Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*, *Phytochemistry*, **59**, 175-181, 2002.
- 61) Eo S. K., Kim Y. S., Lee C. K., Han S. S. : Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharides from *Ganoderma lucidum*, *J. Ethnopharmacol.*, **68**, 175-181, 1999.
- 62) Tomoda M., Gonda R., Kasahara Y., Hikino H. : Glycan structures of ganoderans B and C, hypoglycemic glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies, *Phytochemistry*, **25**, 2817-2820, 1986.
- 63) Zhu M., Chang Q., Wong L. K., Chong F. S., Li R. C. : Triterpene antioxidants from *Ganoderma lucidum*, *Phytother. Res.*, **13**, 529-531, 1999.
- 64) Min B. S., Nakamura N., Miyashiro H., Bae K. W., Hattori M. : Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease, *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1607-1612, 1998.
- 65) Mekkawy S., Meselhy M. R., Nakamura N., Tezuka Y., Hattori M., Kakiuchi N., Shimotohno K., Kawahata T., Otake T. : Anti-HIV-1 and anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum*, *Phytochemistry*, **49**, 1651-1657, 1998.
- 66) Min B. S., Nakamura N., Hattori M. : Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against Meth-A and LLC tumor cells, *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1026-1033, 2000.
- 67) Wu T. S., Shi L. S., Kuo S. C. : Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes, *J. Nat. Prod.*, **64**, 1121-1122, 2001.
- 68) 水野 卓 : 驚異のキノコ ヤマブシタケの薬効と利用, *FFI Journal*, **175**, 105-114, 1998.
- 69) Kawagishi H., Shimada A., Hosokawa S., Mori H., Sakamoto H., Ishiguro Y., Sakemi S., Bordnadr J., Kojima N., Furukawa S. : Erinacines E, F, and G, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the Mycelia of *Hericium erinaceum*, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 7399-7401, 1996.
- 70) Lee E. W., Shizuki K., Hosokawa S., Suzuki M., Sugauma H., Inakuma T., Li J., Ohnishi-

- Kameyama M., Nagata T., Furukawa S., Kawagishi H. : Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Hericium erinaceum*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2402-2405, 2000.
- 71) Kawagishi H., Ando M., Mizuno T., Yokota H., Konishi S. : A novel fatty acid from the mushroom *Hericium erinaceum*, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1329-1331, 1990.
- 72) Mizuno T., Wasa T., Ito H., Suzuki C., Ukai N. : Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruiting body of *Hericium erinaceum*, an edible and medicinal mushroom called yamabushitake or houtou, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 347-348, 1992.
- 73) Manzi P., Pizzoferrato L. : Beta-glucan in edible mushrooms, *Food Chemistry*, **68**, 315-318, 2000.
- 74) Gutierrez A., Prieto A., Martinez A. T. : Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*, *Carbohydr. Res.*, **281**, 143-153, 1996.
- 75) 三崎 旭, 松井元子, 浜田澄子 : キノメジ科食用茸 (ヒラタケ, タモギタケ) の多糖の化学的性質および抗腫瘍作用, 大阪市大生活科学部紀要, **39**, 1-8, 1991.
- 76) Yoshioka Y., Tabeta R., Sato H., Uehara N., Fukuoka F. : Antitumor polysaccharide from *P. ostreatus* (Fr.) Quel.: Isolation and structure of a β -glucan, *Carbohydr. Res.*, **140**, 93-100, 1985.
- 77) Bobek P., Galbavy S. : Effect of pleuran (beta-glucan from *Pleurotus ostreatus*) on the antioxidant status of the organism and on dimethylhydrazine-induced precancerous lesions in rat colon, *Br. J. Biomed. Sci.*, **58**, 164-168, 2001.
- 78) 割石博之, 瀬博文 : キノコの仲間が環境を浄化する, *化学と生物*, **38**, 571-573, 2000.
- 79) Hirano T., Honda Y., Watanabe T., Kuwahara M. : Degradation of bisphenol A by the lignin-degrading enzyme, manganese peroxidase, produced by the white-rot basidiomycete, *Pleurotus ostreatus*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 1958-1962, 2000.
- 80) Kubatova A., Erbanova P., Eichlerova I., Homolka L., Nerud F., Sasek V. : PCB congener selective biodegradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* in contaminated soil, *Chemosphere*, **43**, 207-215, 2001.
- 81) Masaphy S., Henis Y., Levanon D. : Manganese-enriched biotransformation of atrazine by the white rot fungus *Pleurotus pulmonarius* and its correlation with oxidation activity, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 3587-3593, 1996.
- 82) Sanche A., Ysunza F., Beltran-Garcia M.J., Esquenda M. : Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 2537-2542, 2002.
- 83) 木方 正 : キノコが身体によいわけ, *薬学図書館*, **47**, 48-51, 2002.

Useful Substances Occurring in Mushrooms

Tadashi KIHNO

*Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences : 1-1 Naka-fudogaoka,
Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*

Summary

This review describes the structural features, properties, antitumor activity of $(1 \rightarrow 3)$ - β -D-glucans, summary of dietary fibers, and characteristic properties of some basidiomycetes mushrooms. The antitumor active $(1 \rightarrow 3)$ - β -D-glucans have the high-ordered structure and immunopotential activity. The content of dietary fibers was higher level in mushrooms. Useful substances such as polysaccharides and triterpenoids are obtained from the fruiting bodies or cultured medium of *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Agaricus blazei*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceum*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, and *Pleurotus cornucopiae*. Eating the fungi such as mushrooms is necessary from the view point of the circulation among fungi, plant and animal, then medicinal and edible mushrooms are useful for our health.

Keywords : mushroom, β -D-glucan, dietary fiber, antitumor activity, immunopotential

岐阜県内河川底質中のダイオキシン類

安田 裕, 村瀬秀也, 大平武俊

要 旨

県内河川底質中のダイオキシン類の実態を明らかにするため、8河川、計11調査地点で河川水及び河川底質を採取しダイオキシン類を定量した。その結果、県内河川のダイオキシン類毒性等量は、河川水で0.17～0.22 pg-TEQ/L、底質で0.10～3.2 pg-TEQ/gの範囲で、いずれも環境基準を満足しており、環境省が平成12年度に行った環境調査の全国平均値¹⁾と比較して低い値であった。また、PCDD/PCDF及びCo-PCB異性体組成解析の結果、県内の河川底質は農薬(CNP, PCP)及びPCB製品の影響を受けていることが示唆された。

キーワード：ダイオキシン類, 河川底質, 異性体組成, 汚染要因

1 はじめに

ダイオキシン類は、物の燃焼や工業製品の製造過程等で非意図的に生成される化学物質で、ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(以下PCDDと記述)、ポリ塩化ジベンゾフラン(以下PCDFと記述)、及びコプラナーポリ塩化ビフェニル(以下Co-PCBと記述)を指す。これらは多数の異性体を持つが、一部は非常に強い毒性を有することが知られており、ダイオキシン類対策特別措置法の施行により、環境基準(大気、水質、土壌)、排出基準(大気、水質)が設定されるなど、現在最も注目されている化学物質である。

一般に、ダイオキシン類の定量では、同時に数多くの異性体を分析するため、試料に関する膨大な異性体情報を得ることができる。しかし、これらの情報は、最終的には毒性等量値(TEQ)として1つのデータに集約して評価されることが多く、この場合、調査地点ごとの異性体存在特性などの情報は反映されない。また、環境データの蓄積不足から環境基準の設定が遅れていた底質についても、平成14年9月1日から150pg-TEQ/gの基準値が適応されることとなった。

本県においても河川底質中ダイオキシン類の調査事例は非常に少ない現状にあることから、県内を流下する代表的8河川、計11調査地点において河川水及び河川底質を採取し、ダイオキシン類の定量を行うとともに、異性体組成の解析を試みたところ、若干の知見を得たので報告する。

2 調査方法

2.1 調査試料

県内を流下する代表的な8河川、計11調査地点において河川底質及び河川水を採取し、調査対象試料とした。試料の採取は、調査地点において降雨の影響等が認められない期日を選び、平成12年10～12月の間に実施した。参考のため、調査河川の概況及び採取した底質の性状を要約して表1に示す。A～Hの8河川は、いずれも水量の豊富な1級河川であり、年平均BOD値が2.7mg/L以下²⁾の比較的清浄な河川である。また、採取した底質の外観は基本的には砂状で、強熱減量は0.9～5.2%、粒子径250μm以下の占める割合(以下微細泥率と記述)は3.5～97%、平均粒子径は、0.10～1.3mmの範囲であった。

2.2 分析方法

河川水については、実験室で十分に洗浄した10Lガラスびん6本に、表層から約10cmの位置で採取した試料を、汚染の無いよう配慮して持ち帰り、このうち約20Lを用いて「工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法」³⁾に準拠してPCDDs/PCDFs及びCo-PCBsを測定した。

底質については、あらかじめ現場で目開き2mmの篩を通して採取した試料を、汚染の無いよう配慮して持ち帰り、十分に風乾した後、約50gを用いて「ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル」⁴⁾に準拠して同様に測定した。

表1 調査河川の概況及び採取底質の性状

	地点名	A	B-1	B-2	C-1	C-2	D	E	F	G	H-1	H-2
河川水	採取流域	—	中流	下流	下流	上流	中流	最上流	中流	下流	下流	下流
	環境基準の水域類型	A	A	B	A	△△	A	△△	A	C	A	A
	年平均BOD (mg/l)	0.8	0.9	0.6	1.2	1.0	1.1	0.7	0.5	2.7	1.0	0.8
採取底質	外観	粗い砂状	粗い砂状	砂状	泥まじり細砂	粗い砂状	泥まじり細砂	粗い砂状	粗い砂状	砂状	砂状	砂状
	強熱減量 (%)	1.8	1.3	1.2	5.2	1.0	5.0	0.9	1.5	1.5	1.2	1.2
	微細泥率 (%)	15	3.5	7.0	97	8.0	77	14	2.8	20	2.2	3.5
	平均粒子径 (mm)	0.51	1.3	0.60	0.10	0.90	0.12	0.76	0.68	0.41	0.76	0.85

3 結果及び考察

3.1 ダイオキシン類の実態

3.1.1 河川水と底質試料のダイオキシン類濃度及び毒性等量

河川水及び底質中のダイオキシン類定量結果を総括して表2に示す。全調査地点の実測濃度は、河川水で7.0～97pg/L、底質で10～910pg/gの範囲であった。また、毒性等量は、河川水で0.17～0.22pg-TEQ/L、底質で0.10～3.2pg-TEQ/gの範囲で、いずれも環境基準を満足しており、環境省が行った平成12年度環境調査結果の全国平均値0.36pg-TEQ/L及び9.2pg-TEQ/g¹⁾と比較して低い値であった。

3.1.2 PCDDs, PCDFs及びCo-PCBsの構成比からみた調査地点の汚染特性

各調査地点のダイオキシン類汚染特性の概略を把握するため、底質中のダイオキシン類濃度に占めるPCDDs, PCDFs, Co-PCBsの構成比を求め、図1に示した。PCDDsの構成比が約70%以上と高い地点(A, D, G, H-1, H-2)、Co-PCBsの構成比が70%以上と高い地点(B-1, B-2, E)、他に比してPCDFsの構成比の高い地点(C-2, F)が認められた。A, D, G, H-1, H-2は農業系排水の影響を、B-1, B-2は上流の古紙再

生工場排水の影響を、Fは近傍に立地する焼却施設の影響を受けている可能性が高く、この結果は、地点ごとの汚染の特性を反映しているものと推察された。なお、地点EでCo-PCBsの比率が高かったのは、PCDD, PCDFの定量に際して検出下限値以下の異性体が多かったことによるものと思われた。

次に、底質におけるPCDDs, PCDFs, Co-PCBsのTEQ寄与率を図2に示した。各調査地点のTEQ寄与率は、PCDDsで33～73%、PCDFsで21～65%、Co-PCBsで2.5～17%の範囲であり、ほとんどの調査地点でPCDDs>PCDFs>>Co-PCBsの関係が認められた。なお、河川水についても同様の検討を行ったが、底質と類似の傾向であった。

3.2 河川底質の同族体及び異性体組成

3.2.1 PCDD/PCDF異性体存在パターンと汚染要因

各調査地点におけるPCDD/PCDFの汚染要因を解明する手がかりとして、底質試料におけるPCDD/PCDFの同族体構成比について検討した。図3に示ように、全調査地点で類似した同族体構成パターンが認められた。すなわち、図1の結果からも明らかのようにPCDDs構成比がPCDFsに比して圧倒的に大きかった。更に詳細に見ると、PCDDの中ではO8CDDが際だっ

表2 河川水及び河川底質の測定結果

地点名	A	B-1	B-2	C-1	C-2	D	E	F	G	H-1	H-2	環境基準
河川水実測濃度 (pg/L)	72	11	71	7.8	7.9	13	11	7.0	97	47	17	1pg-TEQ/L
河川水TEQ (pg-TEQ/L)	0.21	0.18	0.19	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.22	0.19	0.18	
底質実測濃度 (pg/g)	710	83	250	910	10	640	14	35	500	34	16	150pg-TEQ/g
底質TEQ (pg-TEQ/g)	1.5	0.18	0.36	3.2	0.14	1.7	0.10	0.25	1.0	0.13	0.10	

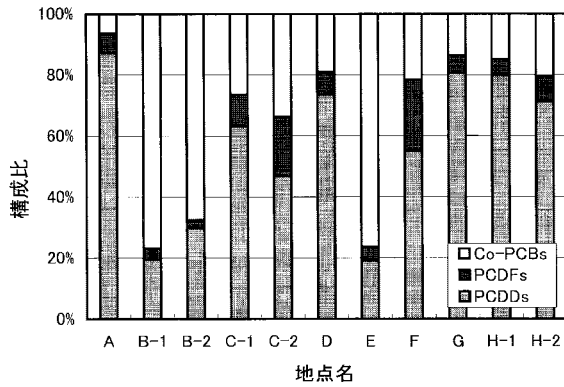


図1 底質試料中のPCDDs, PCDFs, Co-PCBs構成比

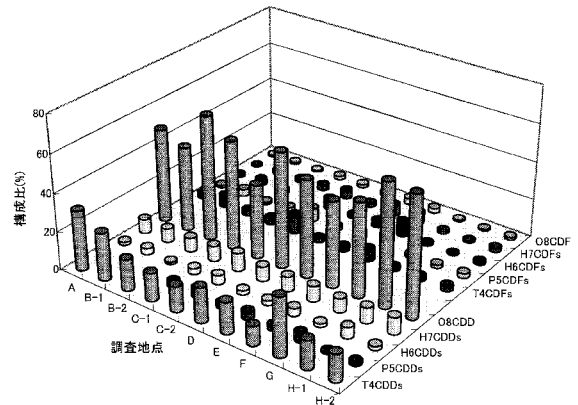


図3 各調査地点のPCDD/PCDF同族体存在比率

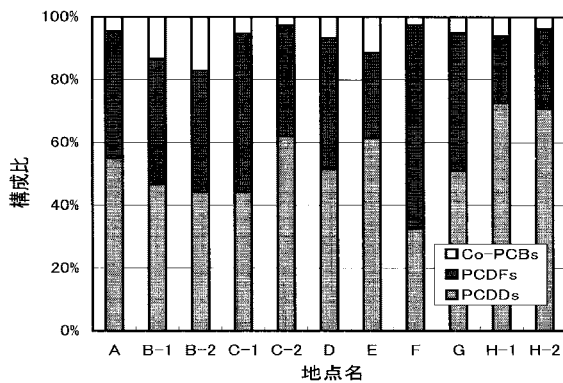


図2 底質資料におけるTEQ寄与率

て大きく、次いでT4CDDs, H7CDDsの順で、それらの構成比率は地点間で顕著な差異が認められなかった。このことは、どの調査地点のPCDD/PCDFも、同じ汚染要因の影響を受けていることを示唆するものと推察された。

一般に、河川環境におけるPCDD/PCDFは、過去にCNPやPCPを除草剤として大量に使用した経緯があり、それらに含有された不純物としてのダイオキシン類の影響を受けていることも推察される。また、最大のダイオキシン類発生源とされる焼却排ガスの排出先である環境大気中のダイオキシン類の影響も無視できない。

ところで、汚染要因の推定には、汚染源の持つ特有

の異性体を解析して行われることが多い。たとえば、清家ら⁵⁾は、2468-T4CDFを指標に河川の流下にもとなう農薬の影響について評価している。また、柴山ら⁶⁾は、ダイオキシン発生源別の主要異性体について検討し、燃焼, CNP, PCPについて表3の知見を示している。そこで、これらの観点から各調査地点の異性体分布特性について検討した。

調査地点Aの底質試料（以下底質Aと記述）と環境中に広範囲に分布し、各種媒体にその影響を及ぼすと思われる環境大気試料（平成11年度の県内9調査地点の環境大気測定試料を等量混合して作成。以下大気試料と記述）のT4CDDとT4CDFのクロマトグラムを図4に示す。T4CDDのクロマトグラムから底質Aの1368-及び1379-T4CDDはT4CDDsのほとんどすべてを占め、大気試料に比して構成比が高いこと、T4CDFのクロマトグラムから底質Aでは大気試料に比して2468-T4CDFの構成比が顕著に高いことがわかる。また、図3の同族体構成比率を見ると、T4CDDsの構成比率は、O8CDDに次いで高く、これらの結果は、表3に示すCNPによる汚染起源の特徴と類似のものであった。なお、底質AのT4CDFクロマトグラムの2468-T4CDFを除く異性体の存在パターンから推測すると、弱い大気試料のパターンの存在が示唆された。これら異性体分布の特徴は、他の調査地点においても同様に

表3 発生源別の主たる異性体

発生源	主たる異性体
燃焼	一部異性体・同族体が際だって存在することはない
CNP	1368-,1379-T4CDD, 12468-,12479-,12368-,12379-P5CDD 2468-T4CDF, 23468-P5CDF 【T4CDDs高い, T4CDFs中2468-高い】
PCP	O8CDD, 1234689-H7CDF, 124689-H6CDF 【O8CDD高い】

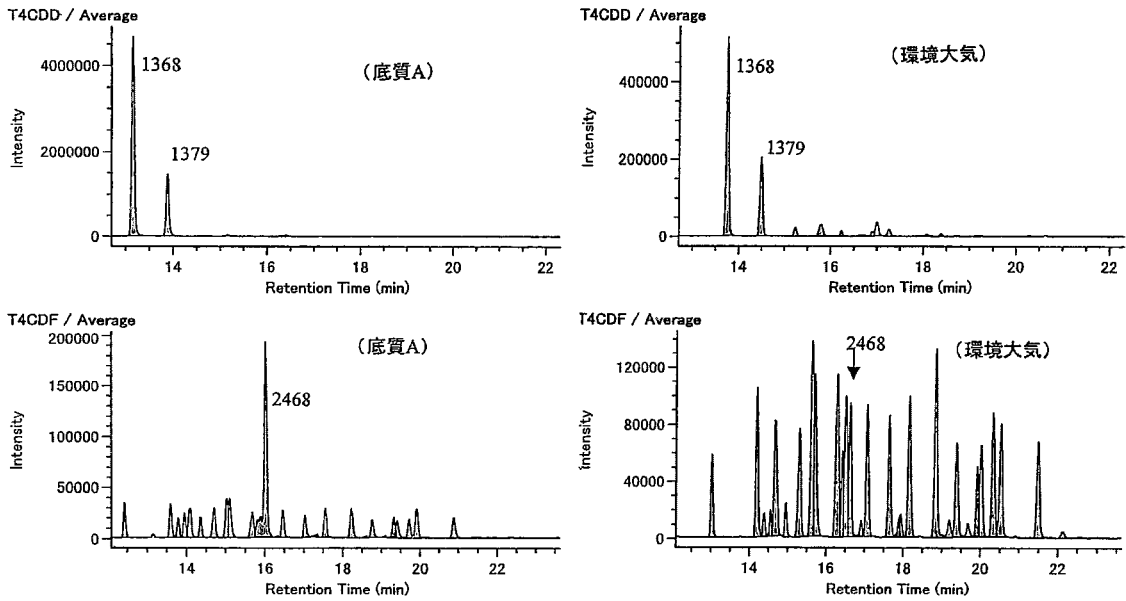


図4 T4CDD及びT4CDFのクロマトグラム

認識できた。

次に、底質Aと大気試料のH6CDF及びH7CDFのクロマトグラムを図5に示す。底質Aの124689-H6CDF及び1234689-H7CDFは、いずれも大気試料に比して構成比率が高かった。更に、図3の同族体構成比を見るとO8CDDが非常に大きな比率を占めており、これらの結果は、表3に示すPCPによる汚染起源の特徴と類似のものであった。また、これら異性体分布の特徴は、他の調査地点においても同様に認識できた。

以上の結果を総括すると、県内河川の底質中のダイ

オキシン類は、低レベルの大気試料の影響の上にCNP、PCPなどの農薬の影響が付加された形態であることが推測された。

3.2.2 Co-PCB異性体存在パターンと汚染要因

各調査地点におけるCo-PCBの汚染要因を解明するため3.2.1のPCDD/PCDFの場合と同様の観点から底質試料の異性体（毒性等価係数の示された12異性体）の存在パターンを解析し、図6に示した。その結果、B河川を除くすべての調査地点でよく似た異性体存在パターンを認めた。すなわち、#118が最も高く、次

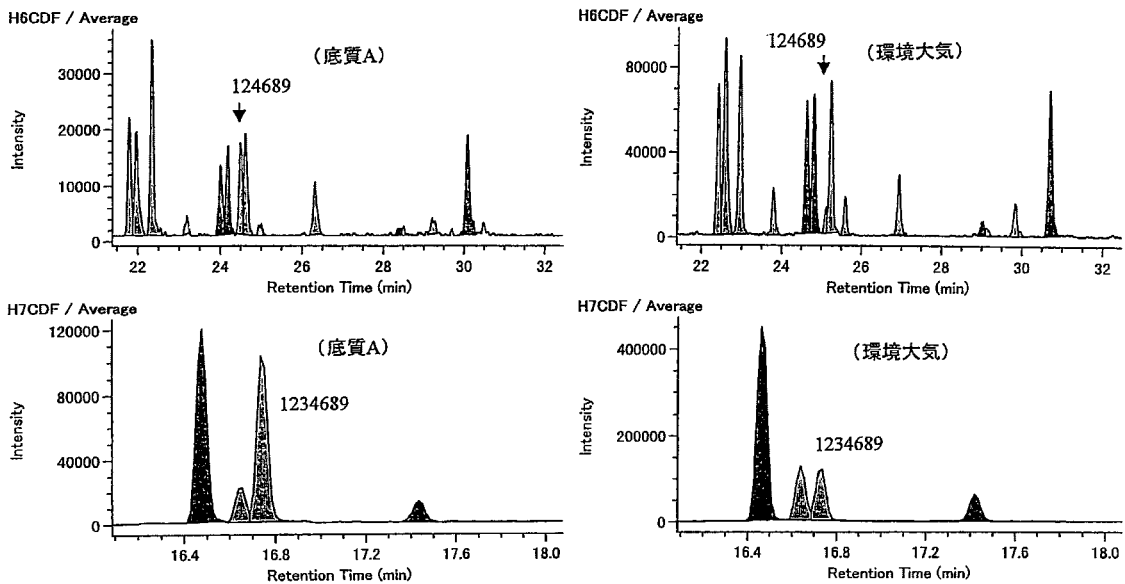


図5 H6CDF及びH7CDFのクロマトグラム

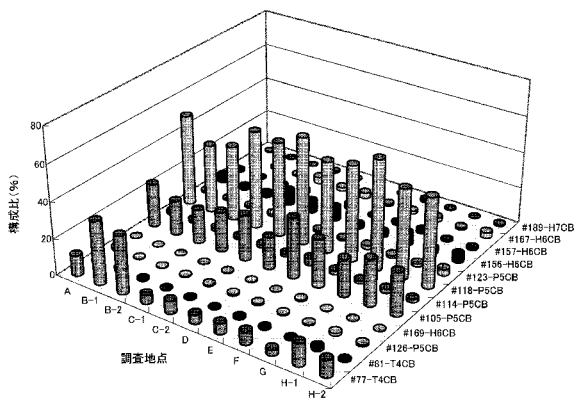


図6 各調査地点Co-PCB存在比率

いで #105, #77 の順であった。なお, B 河川 2 地点については, #105 と #77 の順序が逆転した存在パターンを示したが, この原因については, 調査地点上流部に数多く立地した古紙再生関連事業所からの排水の影響が付加されたためと推察された。

一般に, KC-300, KC-400 などの工業用 PCB 中のダイオキシン類調査事例では, #118, #105, #77 が特異的に高く検出されるといわれており, 柴山ら⁶⁾も同様の知見を報告している。本調査結果から得られた県内河川底質の Co-PCB 異性体分布特性は, 既知の PCB 製品による異性体分布パターンの知見と類似のものであることが確認され, PCB 製品の影響を強く受けていることが推察された。

4 まとめ

県内を流下する代表的 8 河川, 計 11 調査地点の河川水及び底質についてダイオキシン類を定量し, それらの濃度, 毒性等量及び異性体組成について検討した。その結果, 県内河川のダイオキシン類毒性等量は, 河川水で 0.17 ~ 0.22 pg-TEQ/L, 底質で 0.10 ~ 3.2 pg-TEQ/g の範囲であり, 環境省が平成 12 年度に行った常時監視事業の全国平均値 0.36 pg-TEQ/L 及び 9.2 pg-TEQ/g と比較して低い値であった。また, 底質中の PCDD/PCDF 及び Co-PCB の異性体組成を既知の主要発生源 (燃烧, CNP, PCP, PCB 製品) の特徴と比較検討した結果, 県内の河川底質は農業 (CNP, PCP) 及び PCB 製品の影響を受けていることが示唆された。

文献

- 1) 環境省:平成 12 年度ダイオキシン類に係る環境調査結果, 2001.
- 2) 岐阜県健康福祉環境部:平成 11 年度岐阜県公共用水域及び地下水の水質調査結果報告書, 2000.
- 3) 日本規格協会:工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナー PCB の測定方法 J I S -K 0312, 1999.
- 4) 環境庁水質保全局水質管理課:ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル, 2000.
- 5) 清家信康, 松本めぐみ, 松田宗明, 河野公栄, 脇本忠明:松山平野における底質中ダイオキシン類の分布と挙動,環境化学, 12, 89-96, 2002.
- 6) 柴山基, 安田賀子, 中井勉, 林篤宏, 井上毅, 高菅卓三:ダイオキシン類分析における指標異性体について (その 2), 第 10 回環境化学討論会資料, 104-105, 2001.

PCDD/PCDF and Co-PCB Contamination Levels in River Sediments in Gifu Prefecture

Yutaka YASUDA, Hideya MURASE, Taketoshi OHIRA

Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences, 1-1, Naka-Fudouoka, Kakamigahara, Gifu, 504-0838, Japan

Summary

To investigate the contamination level of dioxins and their related compounds in river sediments, PCDDs/PCDFs and Co-PCBs in river waters and river sediments in Gifu prefecture were measured. The toxicity equivalency factors of river water and river sediment samples were in the range of 0.17-0.22 pg-TEQ/L, 0.10-3.2 pg-TEQ/g, and were low values compared with the environmental quality standards. PCDDs/PCDFs and Co-PCBs isomer compositions were analyzed to estimate the contamination sources. As a result, it was suggested that the river sediments were influenced by agricultural chemicals (CNP,PCP) and the PCB products.

Keywords : Dioxins, River sediment, Isomer composition, Contamination source

岐阜県内河川における内分泌攪乱化学物質の実態について

春日洋二, 村瀬秀也

要 旨

県内河川の内分泌攪乱化学物質による正確な環境リスク評価を可能にするため、環境庁が実施した全国調査で検出率の高かったノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルおよび17β-エストラジオールについて詳細な実態調査を実施した。その結果、ノニルフェノールは長良川水系の逆川、犀川、境川および桑原川で魚類への無影響濃度である0.608 μg/Lを超えていた。

4-t-オクチルフェノールは全地点とも魚類への無影響濃度である0.992 μg/Lを下回った。ビスフェノールAは長良川水系の糸貫川で最高濃度(2.41 μg/L)が検出された。

キーワード：内分泌攪乱化学物質，河川水，底質

1 はじめに

平成8年、米国の科学者シーア・コルボーンらは著書『奪われし未来』の中で、環境中の合成化学物質が従来の毒性試験では見過ごされてきた新しい毒性、即ち、あたかも動物ホルモンに似た働きをすることにより、野生生物や人の生殖異常や発育異常などを引き起こす可能性を指摘し、早急な対策を講ずるよう警鐘をならした。このような毒性を持った化学物質は内分泌攪乱化学物質(以下「環境ホルモン」という)と呼ばれ、我が国では環境ホルモン問題がマスメディアにより大きく取り上げられたことから、この問題に対する国民の関心は過熱気味とも思われる程の高まりを示した。これを受けて、環境庁が平成11年に「環境ホルモン緊急全国一斉調査」の一環として内分泌攪乱作用の疑われる67物質の内、農薬以外の22物質について夏期(100地点)及び秋期(139地点)に実施した「水環境における内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)実態調査¹⁾」の結果、大まかな汚染実態が明らかにされた。即ち、ノニルフェノール(検出率66%)、4-t-オクチルフェノール(検出率61%)、ビスフェノールA(検出率60%)、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(検出率36%)、17β-エストラジオール(検出率59%)が高い割合で検出された。

著者らは県内を流れる河川の正確な環境リスク評価を可能にするため、環境庁が実施した全国調査の結果を踏まえ、長良川水系及び揖斐川水系の水域類型指定

がBランク以下の河川を対象に、検出率の高かった上記5物質について詳細な実態調査を実施した。

2 調査方法

2.1 測定項目

ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、17β-エストラジオールの5物質。図1に各物質の化学構造を示す。

2.2 採取試料及び採取日

長良川水系は平成12年の春期と秋期の2回、揖斐川水系は平成13年の春期と秋期の2回採取した。ただし、底質試料の採取は春期1回のみとした。

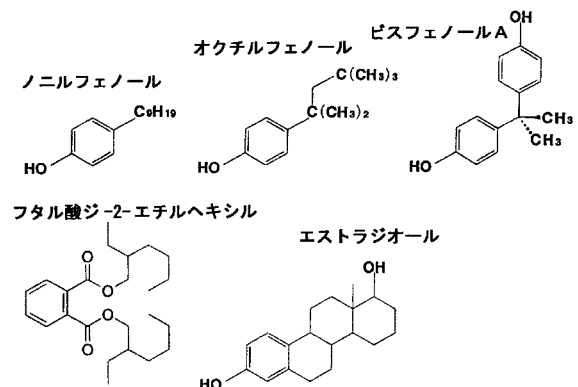


図1 内分泌攪乱化学物質の化学構造

2.3 試料採取場所

長良川水系は、長良川本川上流（藍川橋）、山田川（本川合流前）、伊自良川（竹橋）、両満川（江口橋）、糸貫川（苗田橋）、荒田川（水門橋）、境川（境川橋）、逆川（本川合流前）、犀川（本川合流前）、桑原川（桑原橋）、長良川本川下流（長良大橋）の11地点。掛斐川水系は、掛斐川本川上流（鷺田橋）、相川（荒崎新橋）、杭瀬川（野口橋）、中之須川（本川合流前）、牧田川（横昔根橋）、水門川（二水橋）、津屋川（福岡大橋）、大江川（水の里花橋）、掛斐川本川下流（油島大橋）の9地点。

2.4 分析方法

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（平

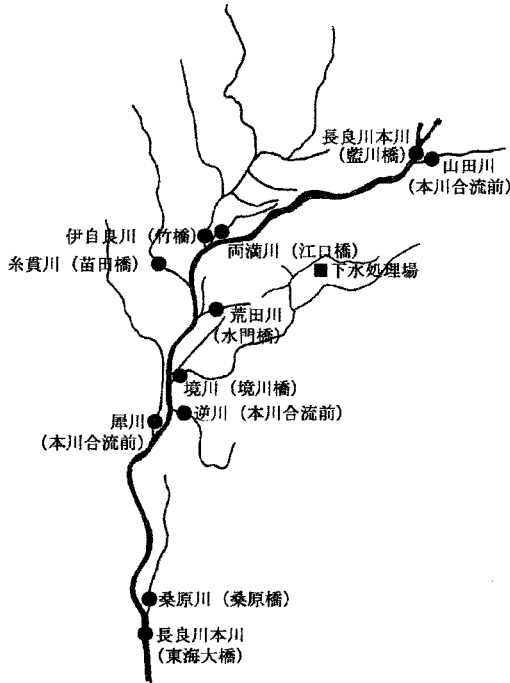


図2 長良川水系の調査地点

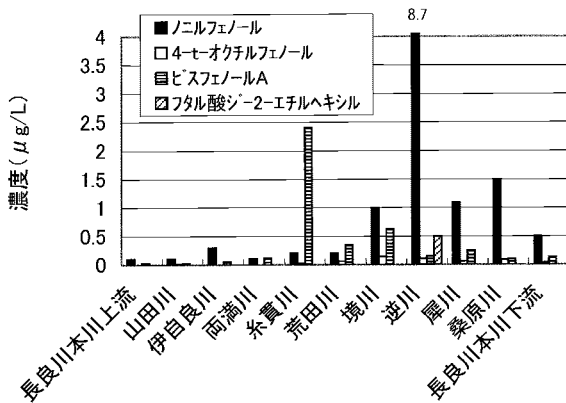


図3 長良川水系における水質試料中内分泌攪乱化学物質濃度

成10年10月、環境庁水質保全局水質管理課）に示す方法によった。

3 調査結果及び考察

1) 長良川水系について

図2に示す長良川本川の上流、下流各1地点及び支川9地点で調査した結果を図3及び4に示す。

ノニルフェノールは、非イオン界面活性剤のノニルフェノールエトキシレートが微生物により好氣的及び嫌氣的分解を受けて生成する物質²⁾で、調査の結果、水質試料では全地点で0.1～8.7μg/Lの濃度範囲で検出された（全国調査でND～21μg/L）。

逆川が調査地点中、最高濃度の8.7μg/Lを示したことは、本川上流にある工場からの排水に起因するものと推察される。衣斐ら³⁾は長良川水系における界面活性剤の河川流出濃度について行った調査で、アルキルフェノールエトキシレート濃度が逆川で最高濃度を示したことを報告している。本結果はアルキルフェノールエトキシレートの分解物であるノニルフェノール濃度も高い可能性を示唆しており、著者らの調査によりこのことが裏付けられた。底質試料は3地点で50～950μg/kgの濃度範囲で検出された（全国調査ではND～4900μg/kg）。

ノニルフェノールが底質試料で高濃度に検出されたのは、本物質が疎水性⁴⁾であるため、付着藻類に吸着し易いこと⁵⁾に起因するのではないかと考えられる。

環境省は平成12年度から内分泌攪乱作用が疑われている化学物質の有害性評価を実施しており、ノニルフェノールの魚類への影響評価試験結果では、本物質が魚類に対して強い内分泌攪乱作用を有することが判明⁶⁾した。また、魚類への無影響濃度は0.608μg/Lであることが示されたことから、境川、逆川、犀川、及

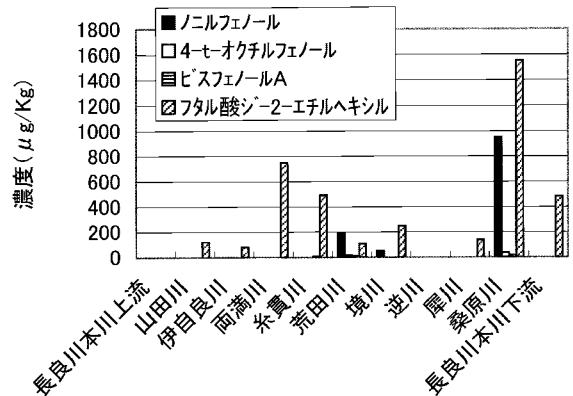


図4 長良川水系における底質試料中内分泌攪乱化学物質濃度

び桑原川はこの濃度を超過しており、魚類へのリスクが示唆される。

4-t-オクチルフェノールは、ノニルフェノールエトキシレートと同族体であるオクチルフェノールエトキシレートがノニルフェノール同様、微生物による分解を受けて生成される²⁾。

環境省が実施した4-t-オクチルフェノールの魚類への影響評価試験結果では、本物質がノニルフェノール同様魚類に対して強い内分泌攪乱作用を有することが判明し⁷⁾、魚類への無影響濃度は0.992 μg/Lであることが示された。今回の調査で、水質試料では8地点から0.01～0.14 μg/Lの濃度範囲で検出された(全国調査ではND～13 μg/L)が、全て無影響濃度以下で

あったことからすれば、4-t-オクチルフェノールの魚へのリスクは低いと考えられる。底質試料では2地点から17～36 μg/kgの濃度範囲に検出された(全国調査ではND～436 μg/kg)。オクチルフェノールが底質試料で高濃度に検出されたことは、ノニルフェノール同様本物質が付着藻類へ吸着され易いことに起因するものと考えられる。

ビスフェノールAは、ポリカーボネート、エポキシ樹脂の原料、食品容器のラッカー塗装、感熱紙やノーカーボン紙の顕色⁸⁾などに多く使用されている合成化学物質で、ビスフェノールAを含んだ古紙を再生する工場からの排水には本物質が高濃度に含まれることが知られている⁹⁾。

今回の調査の結果、水質試料では全地点から0.02～2.41 μg/Lの濃度範囲で検出された(全国調査でND～0.94 μg/L)。糸貫川が調査地点中最高濃度の2.41 μg/Lを示したことは、本川上流にある古紙再生工場から流れ込む排水に起因することが推察される。底質試料では3地点から8～17 μg/kgの濃度範囲で検出された(全国調査ではND～67 μg/kg)。

プラスチックの可塑剤として広く使われているフタル酸ジ-2-エチルヘキシルは、水質試料では1地点で検出(0.50 μg/L)された(全国調査ではND～9.9 μg/L)。底質試料では9地点から81～1553 μg/kgの濃度範囲で検出された(全国調査ではND～21000 μg/kg)。この値は水質試料よりかなり高濃度であった。

人畜由来の女性ホルモンである17β-エストラジオールは、水質試料では5地点から0.003～0.005 μg/Lの濃度範囲で検出された(全国調査ではND～0.035 μg/L)。底質試料では9地点から0.007～0.17 μg/kgの濃度範囲で検出された(全国調査ではND～16 μg/kg)。

2) 揖斐川水系について

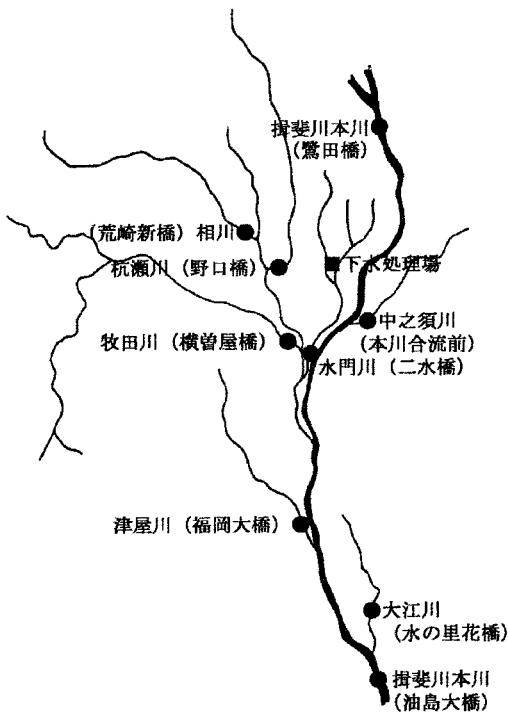


図5 揖斐川水系調査地点

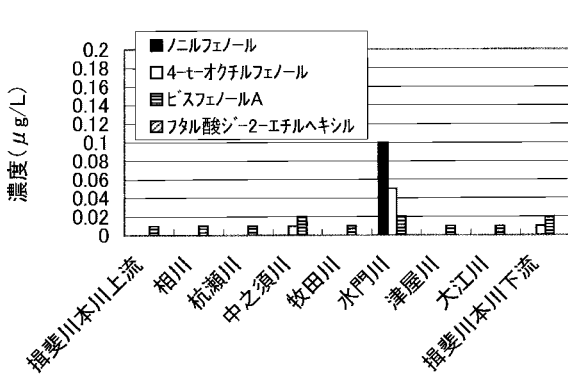


図6 揖斐川水系における水質試料中内分泌攪乱化学物質濃度

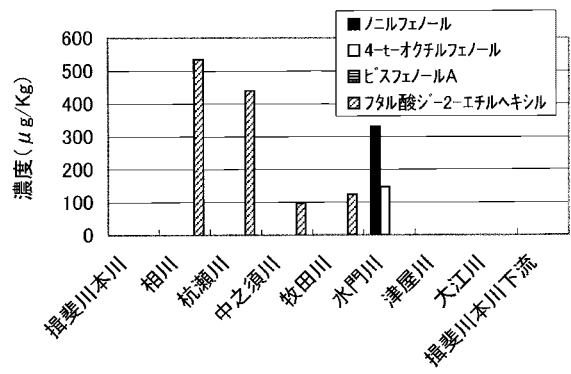


図7 揖斐川水系における底質試料中内分泌攪乱化学物質濃度

図5に示す揖斐川本川の上流, 下流各1地点, 支川7地点で調査を行った結果を図6及び7に示す.

ノニルフェノールは, 水質試料では1地点で検出されたが, 低濃度 ($0.1 \mu\text{g/L}$) であったことから, 魚類へのリスクは低いと考えられる. 底質試料では1地点から検出 ($330 \mu\text{g/kg}$) された.

4-t-オクチルフェノールは水質試料では3地点で検出されたが, 極めて低濃度 ($0.01 \sim 0.05 \mu\text{g/L}$) であったことから, 魚類へのリスクは低いと考えられる. 底質試料では1地点から検出 ($146 \mu\text{g/kg}$) された.

ビスフェノールAは, 水質試料では全ての調査地点で検出されたものの, その濃度は極めて低 ($0.01 \sim 0.02 \mu\text{g/L}$) かった. 底質試料では全ての調査地点で検出されなかった.

フタル酸ジ-2-エチルヘキシルは水質試料では全ての地点で検出されなかった. 底質試料では4地点で検出 ($98 \sim 520 \mu\text{g/kg}$) された.

17β -エストラジオールは, 水質試料では全ての地点で検出 ($0.003\text{-}0.004 \mu\text{g/L}$) され, 底質でも全ての地点で検出 ($0.014 \sim 0.125 \mu\text{g/kg}$) された.

3) 今回調査した5物質の濃度について長良川水系と揖斐川水系を比較すると, 17β -エストラジオールの濃度に殆ど差は無かったが, その他の4物質では長良川水系に高濃度地点が認められた.

4 参考文献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課: 「水環境中の内分泌攪乱化学物質実態調査」, 1999
- 2) 磯部友彦, 高田秀重: 水環境におけるノニルフェノールの挙動と環境影響, 水環境学会誌, 21, 203-208, 1998
- 3) 衣斐武宣, 湯浅 晶, 篠田成郎, 李 富生: 第35回日本水環境学会年会講演集, 9, 2001
- 4) Ahel, M. and Giger, W.: Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates, *Chemosphere*, 26, 1461-1470, 1993
- 5) 高橋明宏ら: 水生生物への環境ホルモンの移行, 第3回環境ホルモン学会研究発表会要旨集, 225, 2000
- 6) 環境省総合環境政策局環境保健部: 平成13年度第一回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料「ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告(案)」, 平成13年度
- 7) 環境省環境保健部環境安全課: 平成14年度第一回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料(案), 平成14年度
- 8) 北尾 修, 池谷一雄: 感熱記録紙古紙の再生技術について, 紙パルプ技術タイムス, 41, 20-24, 1991
- 9) 静岡県環境衛生研究所: 平成11年度新環境研究報告書, VI-8 ~VI-12, 2000

Monitoring of Endocrine Disrupting Chemicals in Nagara and Ibi River

Yoji KASUGA, Hideya MURASE

*Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences : 1-1, Naka-fudogaoka
Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*

岐阜県民の破傷風・ジフテリアに対する抗体保有状況

II. 年齢別ジフテリア抗毒素保有率

野田伸司, 猿渡正子, 青木 聡, 所 光男,
山崎嘉久*, 山本直人**, 住 亮一**, 西松 浩***

要 旨

1998～1999年に岐阜県民から採取された血清345検体について、ジフテリアに対する抗体保有状況を調査し、以下の成績を得た。

1. ジフテリアトキソイド(D)は、1948年の予防接種法制定以来接種が義務化され、1958年の百日咳(P)とのDP, 1968年の破傷風(T)も加えたDPTと多価ワクチン化しているが、DPワクチン接種以降の年代は、抗体価の低下は認められるが、高い保有率を維持している。
2. ジフテリアトキソイド単独接種年齢層の抗体保有率は極めて低く、成人用トキソイドの接種が必要と考えられた。
3. 50歳以上の年代は、ワクチン未接種層と思われるが、当時の流行状況を反映し50%以上の保有率を示した。

キーワード：ジフテリア, 抗体保有状況調査, 岐阜県民

1 はじめに

かつて猛威をふるい、法定伝染病にも指定されたジフテリアは、近年トキソイド接種効果もあり、我が国のジフテリアの患者数は著しく減少し、年間数名の状況が続いている¹⁾。しかし、ジフテリアは典型的な保菌者流行の感染症と考えられ、日本では未だジフテリア菌が一掃されていない²⁾。現在、ワクチンによる免疫度を高める以外に予防方法はなく、1994年に改正された予防接種法においても、国は国民に接種の努力義務を課している。また、1990年に起きたロシアのジフテリア騒動は、その後ワクチン接種の徹底で沈静化した³⁾が、感染防御レベル(0.01国際単位以上)の抗体保有の必要性を改めて示すものであった。

ジフテリアトキソイドは、殆どが破傷風(T)、百日咳(P)と共にDPT或いはDTとして小児や小学6年生に接種されている。また、その効果を計る目的で国は「感染症流行予測調査」を実施し、ジフテリアも定期的に抗体保有状況が調査されている。しかし、

対象年齢が16歳以下に限られ、成人層も含めた調査は行われていない。

岐阜県では、感染症流行予測調査において当該調査に参加した経験はなく、県民の免疫度は現在まで全く不明であるが、今回幼児～成人層までのジフテリア抗体保有状況を調査したのでその成績を報告する。

2 材料と方法

2.1 対象血清

15歳以下の血清は、1998～1999年に県立岐阜病院小児科を受診した患児より、保護者の同意を得て100検体採取された。

16～64歳の血清は、1999年1～3月に岐阜県血液センターで採取された245検体で、年齢以外はアトラダムに収集された。

2.2 抗体測定方法

Vero細胞を用いて、ジフテリア毒素に対する血清中の抗毒素価を定量した。判定は、毒素による細胞の

岐阜県保健環境研究所：504-0838 岐阜県各務原市那加不動丘1-1

* 県立岐阜病院小児科：500-8717 岐阜市野一色4-6-1

** 岐阜県赤十字血液センター：500-8269 岐阜市西部中島2-9

*** 岐阜県保健医療課：500-8570 岐阜市藪田南2-1-1

表1 年齢別ジフテリア抗体保有率

年 齢	検 体 数	陽性 ($\geq 0.011\text{U}/\text{ml}$)				陰性 ($< 0.011\text{U}/\text{ml}$)	
		陽 性 数	陽 性 率 (%)	範 囲	平 均 値	陰 性 数	陰 性 率 (%)
0~4	73	67	92	0.013 ~ 13.11	0.67	6	8
5~9	12	9	75	0.0102 ~ 1.64	0.44	3	25
10~15	15	15	100	0.013 ~ 13.11	0.58	0	0
16~19	20	19	95	0.032 ~ 13.11	0.38	1	5
20~24	25	20	80	0.016 ~ 1.30	0.10	5	20
25~29	25	21	84	0.032 ~ 1.64	0.12	4	16
30~34	25	21	84	0.013 ~ 1.02	0.09	4	16
35~39	25	23	92	0.024 ~ 0.51	0.09	2	8
40~44	25	7	28	0.102 ~ 0.51	0.07	18	72
45~49	25	3	12	0.016 ~ 0.13	0.03	22	88
50~64	75	43	57	0.016 ~ 0.51	0.06	32	43

死亡による培養液の変色³⁾, もしくは細胞変性効果 (CPE) を指標とした. 測定した抗毒素価は, 標準抗毒素に対する相対力価 (国際単位 IU/ml) で表し, 0.01IU以上を陽性, それ未満を陰性と判定した. なお, 試験に用いたVero細胞, ジフテリア試験毒素および標準ジフテリア抗毒素は, 国立感染症研究所細菌・血液製剤部細菌製剤第3室より分与を受けた.

3 成 績

3.1 年齢別抗体保有状況

年齢別のジフテリア抗体保有率および年齢別に抗体価をプロットしたものを表1および図1に示した.

0~39歳では, 各年齢とも70~80%以上の陽性率を保有し, ワクチン効果が示された. 特に, 10~15歳は15検体全てが陽性を示し, 平均値も5~9歳より高い値が示された. しかし, 40歳代では急激に

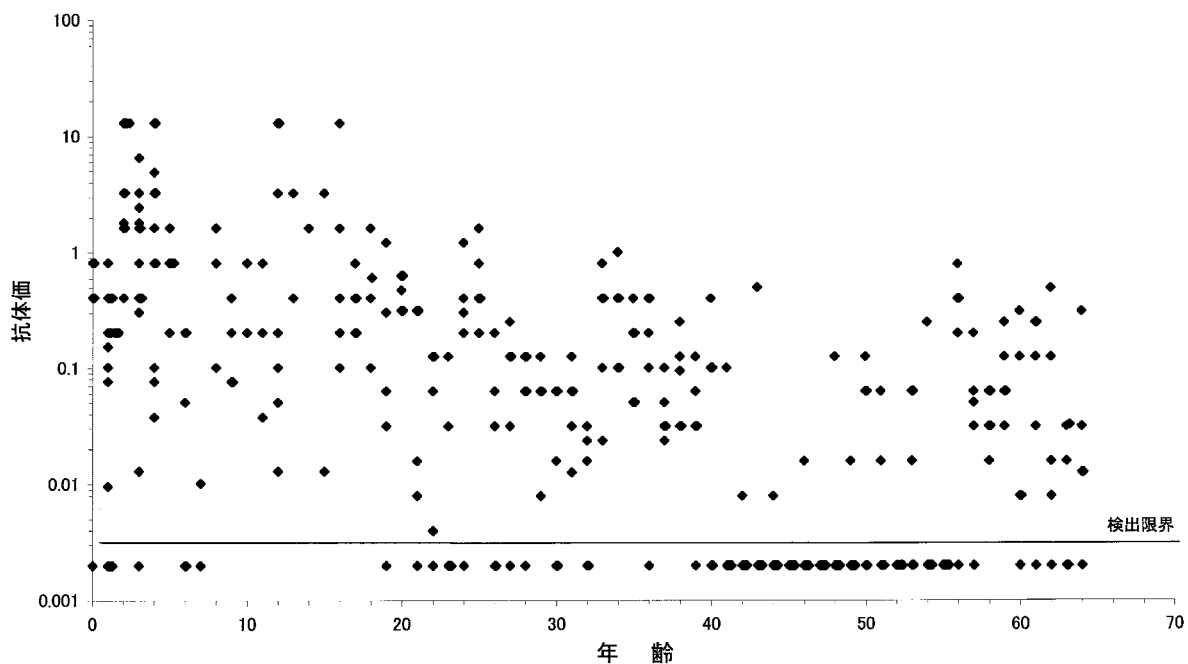


図1 ジフテリア年齢別抗体価

陽性率は低下し、特に45～49歳は25人中22人(88%)が陰性で、陽性者の平均抗体価も0.03と被験者中最低であった。

50歳以上では、陽性率、平均抗体価ともに上昇し、40歳代に比べ陰性率は43%と半減、平均抗体価も0.06に上昇した。

小児期でみると、10～15歳は100%を示したものの、0～4歳は92%、5～9歳は75%の陽性率であった。なお、この5～9歳の陰性者3人は、同時に測定した破傷風抗体価も検出限界以下であった。

4 考 察

かつて、法定伝染病に指定されていたジフテリアは、1999年施行された感染症新法でも、その感染力や罹患した場合の重篤性等に基づく総合的観点からみた危険性が高い感染症として、2類感染症に定められている。

その予防のため、1948年に予防接種法でトキソイドの使用が義務づけられて以来、今日まで定期接種が続いている。ジフテリアトキソイドの使用は、1958年に百日咳との2種混合ワクチン(DP)、1968年から破傷風も含んだ3種混合ワクチン(DPT)と時代と共に多価の混合ワクチンに変わっているが、50年間使われ続け、ジフテリアの患者数、死亡者数の激減に大いに貢献している。

これを今回の成績にあてはめて考えると、幼児期のDPT接種により得た抗体は年々低下するが、小学6年生時のDT接種で上昇し、以後殆どブースターを受ける事なく免疫は低下して、30歳代までかろうじて陽性率は維持されている。16歳以下における成績については、1998年および1999年の感染症流行予測調査⁴⁾およびTakahashiらの報告⁵⁾も同様の結果を報告している。

なお、成績には示していないが、9歳以下の陰性者9人中8人は、同時に測定した破傷風も含め抗体価は検出限界以下を示し、ワクチン未接種者の可能性が考えられた。年長児には、副作用を考慮して減量接種や高純度トキソイドが推奨されているが²⁾、ジフテリア菌が一扫されていない現在、陰性者に対する的確なワクチン接種が期待される。

40歳代で陰性者が急激に増加したことについては、この年代の抗体保有に関する報告が殆どないこと、当時のワクチン接種率およびワクチンそのものに関する資料がないことから原因は不明である。なお、成人層の成績については、高山らが⁶⁾各年代の抗体保有率を調査した中で、ジフテリアトキソイド単独接種の年代

が最も保有率が低いと報告しており、ちょうどこの年代が該当するが、陽性率に相違がありこれ以上の比較はできなかった。

また、50歳以上の陽性率上昇は、この年代がワクチン非接種者層と考えられることから、予防接種法定当時の10,000人を越すジフテリア患者発生の社会情勢を反映しているものと思われた。

このように、ジフテリアに対する抗体保有状況は極度に人工免疫の状態にあり、ワクチン接種率の維持、向上を図ることがジフテリア予防に大切であることは、過去のロシアの例をみれば明らかである。そのためにも少なからず存在する成人を含む陰性者に対して、成人用等の高純度ジフテリアトキソイドの積極的投与が望まれる。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、Vero細胞、ジフテリア試験毒素、標準ジフテリア毒素、を分与していただいた、国立感染症研究所細菌・血液製剤部第3室高橋元秀室長および小宮貴子技官に深謝いたします。

文 献

- 1) 木村三生夫, 平山宗宏, 塚春美, 予防接種の手引き(第8版), 138-157, 近代出版, 2001.
- 2) 国立予防衛生研究所学友会編, ワクチンハンドブック(11)ジフテリアトキソイド, 71-80, 1994.
- 3) Miyamura K., Nishio S., Ito A., Murata R. and Kono R., Micro cell culture method for determination of diphtheria toxin and antitoxin titers using VERO cells. 1. Studies on factors affecting the toxin and antitoxin titration, *J. Biol. Stand.*, 2, 189-201, 1974.
- 4) 1999年度感染症流行予測調査報告書, 第6ジフテリア, 134-148, 厚生労働省結核感染症課, 2001.
- 5) Takahashi M., Komiya T., Fukuda T., Nagaoka Y., Ishii R., Goshima F., Arimoto H., Kaku H., Nakajima T., Goshima T. and Katoh T., A comparison of young and aged populations for the diphtheria and tetanus antitoxin titers in japan, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 50, 87-95, 1997.
- 6) 高山直秀, 南谷幹生, 近藤了, 亀山昭一, 長岡美子: 年齢別破傷風・ジフテリア抗毒素保有率, *感染症誌*, 62, 657-663, 1988.

Seroepidemiological Survey for Tetanus and Diphtheria
in the Gifu Prefectural Population

II Antibody Levels for Diphtheria

Nobuji NODA, Seiko SAWATARI, Satoru AOKI, Mitsuo TOKORO,
Yoshihisa YAMAZAKI*, Naoto YAMAMOTO**, Ryouti SUMI**
and Hiroshi NISHIMATSU***

*Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences : 1-1 Naka-fudogaoka,
Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*

** Department of Pediatrics Prefectural Gifu Hospital : 4-6-1 Noishiki, Gifu 500-8717, Japan*

*** Gifu Red Cross Blood Center : 2-9 Akanabe Nakashima, Gifu 500-8269, Japan*

**** Gifu Prefectural Public Health and Medical Treatment Division : 2-1-1 Yabutaminami,
Gifu 500-8570, Japan*

廃羽毛からのタンパク抽出とその利用

青木 聡, 所 光男

要 旨

食肉加工業者等から排出される廃羽毛を有用資源として活用することに着目し、羽毛に含まれるケラチンタンパクを加水分解して、可溶性と難溶性の2種類のタンパクを抽出する技術を確立した。この2種類のタンパクはどちらも抗酸化性を有していることが確認された。このうち、コルテックス由来の可溶性タンパク (γ -ケラトース) は常温で素早く水に溶解するため、その応用範囲は広いと期待された。これに対し、フィブリル由来の難溶性タンパク (α -ケラトース) は溶解性が低く、水に溶解させるにはアルカリ条件で加温する必要があると認められた。そこで、この α -ケラトースを微生物の培養基質として利用し、土壌等から色素生成菌8株を分離した。そのうち *Penicillium* sp. W 50 Y 株を用い、培地中の α -ケラトース濃度とタンパク分解酵素 (プロテアーゼ) 活性の検討を行ったところ、その添加濃度に応じてプロテアーゼ活性の上昇が認められた。

キーワード：羽毛，ケラチン，抗酸化性，リサイクル，プロテアーゼ

1 はじめに

近年、環境保護の立場から資源のリサイクルに対する関心が高まっている。岐阜県下では年間約一千万羽の鶏が食肉加工されており、多量の廃羽毛が排出されている。羽毛には、ケラチンと呼ばれるタンパク質が、比較的高い割合で含まれており、食肉加工業者等から排出される廃羽毛のリサイクルが望まれていたが、現状では加工業者が処理費用を負担し廃棄物として処理されている。処理業者は、廃羽毛を強酸でアミノ酸に分解処理しているが、リサイクル法として、効率的なケラチンの抽出法を確立し、その特長を生かして利用することが考えられる。すなわち、穏和な条件で処理することにより、タンパク質を比較的高分子量のまま抽出し、その生理活性をあまり損うことなく利用可能と考えられ、これを培養基質に利用しての微生物菌体 (Single Cell Protein; 良質な栄養源として家畜飼料としての需要がある) 生産、あるいは微生物の二次代謝産物としてケラチンからの有用物質への変換なども考えられる。

自然環境中には数多くの微生物が存在するが、その性質が知られているものは極わずかではなく、産業上、利用されている微生物は非常に限られた種類のみにとどまっている。本研究では、これら有用微生物を

探索し、微生物の力を借りて廃棄物から高付加価値物質を創り出すという、環境にやさしい技術の確立を目指した。

2 実験方法

2.1 廃羽毛

民間の食鳥処理業者 (高富町) より入手。これを水洗、乾燥して検討に供した。

検討途中、業者側の事情により入手困難になったため、その後は岐阜県畜産研究所養鶏研究部 (関市) より入手した。

2.2 ケラチン抽出法

羽毛タンパクの主成分であるケラチンには、その構造においてフィブリルを形成する結晶性ケラチンと、コルテックスを形成する非結晶性ケラチンがある。廃羽毛から、この2種類のタンパク (それぞれ、 α -、及び γ -ケラトース) を加水分解して抽出する方法を Alexander の方法¹⁾を参考にして検討した。

2.3 ケラチンの性状

2.3.1 ケラチンの粒径

γ -ケラトースの粒子をマイクロ스코ープにて3,000倍の拡大映像を撮影し、映像上で距離計測を行った。

2.3.2 ケラチンの抗酸化性

α -、及び γ -ケラトースを市販の発光試薬に混合して発光量を測定し、ブランクの発光量で除して化学発光抑制率を算出した。化学発光抑制率 50%の時の試料量 (IC₅₀) で抗酸化能を評価した。

2.4 有用物質生成微生物の探索

α -ケラトース添加培地 (表 1) により、有用微生物の探索を行った。計 53 箇所 (岐阜県、山梨県、栃木県、千葉県、長野県、広島県、愛媛県、兵庫県、高知県、島根県、鳥取県、及び滋賀県) の土壌、水等をサンプリングし、生理食塩水で希釈後、寒天培地に塗布した。20℃で静置培養し、色素生産菌を分離し、継代を繰り返して目的微生物を純化した。

表 1 分離培地の組成

成 分	濃度 (%)
α -ケラトース	1.0
K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.05
D-(+)-グルコース	0.5
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.01
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.1
pH	7.0

2.5 微生物学的同定

分離した微生物の微生物学的同定を形態学的に行った。

2.6 菌体外プロテアーゼ活性

α -ケラトースを 0, 0.5, 1.0, 2.0, 及び 3.0% の濃度で添加した培地 (表 2) に、工場廃液から分離された W 50 Y 株を接種し、培養 7, 及び 13 日に培養液の一部を採取し、以下に示すアンソン-萩原の方法により菌体外プロテアーゼ活性を測定した。

採取した培養液に基質としてミルクカゼインを加え、37℃にて 10 分間作用させた後、3% トリクロロ酢酸により酵素反応を停止させ、30 分間放置して沈殿を凝集させた。上清に 0.4M 炭酸ナトリウム溶液、2 倍希釈フェノール試薬を加え、37℃にて 20 分間発色反応させた。呈色液の 660 nm における吸光度を測定し、

表 2 酵素活性測定培地の組成

成 分	濃度 (%)
α -ケラトース	0 - 3.0
K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
グリセリン	0.8
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05
pH	7.0

表 3 廃羽毛からのタンパク回収率

Run	原料 (g-dry)	抽出条件	収量 (g)		全収率 (%)
			難溶性画分	可溶性画分	
1	100	30% H ₂ O ₂ 140ml	54.83	23.02	78
		80-90℃ 120min			
		10N-NaOH 20ml			
2	200	30% H ₂ O ₂ 200ml	133.84	13.53	74
		80-90℃ 120min			
		10N-NaOH 50ml			
3	200	30% H ₂ O ₂ 240ml	127.95	73.81	101
		80-90℃ 120min			
		10N-NaOH 40ml			
4	200	30% H ₂ O ₂ 200ml	105.31	109.60	107
		80-90℃ 120min			
		10N-NaOH 40ml			
		80-90℃ 90min			

基質を加えなかったブランクの吸光度を差し引き、プロテアーゼ活性を算出した。

同時にPMSFやEDTAによる酵素反応阻害の有無を確認した。

3 結 果

3.1 ケラチン抽出法の検討

廃羽毛を過酸化水素処理後、アルカリ加熱溶解し、等電点沈殿法によりフィブリル由来の難溶性画分 (α -ケラトース) を回収した。 α -ケラトースは、酸性条件 (pH 4 付近) では不溶性となり、析出した白色沈殿を遠心分離して乾燥、磨砕し、褐色粉末の難溶性タンパクとして得た。

これに対し、コルテックス由来の可溶性画分 (γ -ケラトース) は非常に水溶性が高いため、噴霧乾燥法により回収した。

4種の抽出条件 (表3) を検討した結果、Run 3、及び4の条件でほぼ定量的な収率が得られた。

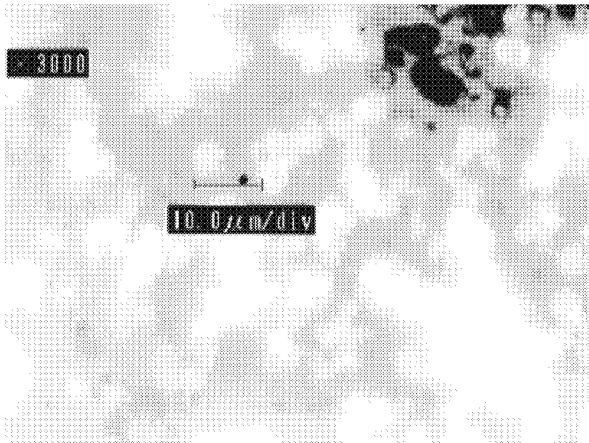


図1 γ -ケラトースのマイクロ스코ープ画像

3.2 ケラチンの性状

3.2.1 ケラチンの粒径

γ -ケラトースの粒径は約5 μ mであった (図1)。

3.2.2 ケラチンの抗酸化性

市販の発光試薬を用いた化学発光抑制率による抗酸化能評価で、2種のケラチン (α -、及び γ -ケラトース) が共に抗酸化性を有していることが確認された。発光を50%抑制する量 (IC₅₀) で比較すると、 α -ケラトースよりも γ -ケラトースの抗酸化能が高いことが分かった (図2、及び3)。

3.3 有用物質生成微生物の探索

α -ケラトース添加培地により、自然環境中から、赤色色素生成菌2株 (FA 182 R、及びFA 192 R)、黄色色素生成菌4株 (FA 81 Y、FA 12 Y、FA 172 Y、及びW 50 Y)、及び紫色色素生成株2株 (FA 72 V、及びFA 142 V) が分離された (表4)。

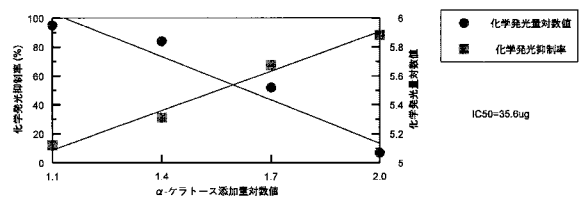


図2 α -ケラトースの添加量と化学発光抑制率

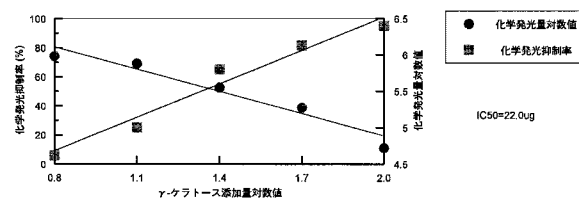


図3 γ -ケラトースの添加量と化学発光抑制率

表4 自然環境中より分離された色素生成菌

生成物	分離菌株	由来
赤色色素	FA182R	美濃加茂 (岐阜県) [淡水]
	FA192R	美濃加茂 (岐阜県) [淡水]
黄色色素	FA81Y	大和 (山梨県) [土壌]
	FA12Y	因島 (広島県) [土壌]
	FA172Y	美濃加茂 (岐阜県) [淡水]
	W50Y	尾西 (愛知県) [工場廃液]
紫色色素	FA72V	洲本 (兵庫県) [土壌]
	FA142V	那須 (栃木県) [土壌]

3.4 分離菌株の微生物学的同定

これまでに分離した菌株のうち、蛍光性黄色色素を生成する糸状菌として、工場廃液から分離されたW 50 Y株 (図4) は、その孢子形状の観察から *Penicillium* sp. に属する²⁻⁴⁾ものと考えられた。

また、赤色色素生成菌 (FA 182 R, 及びFA 192 R株) は生成色素の特徴 ($\lambda_{max} = 536nm$)⁵⁾ から *Serratia* sp., 紫色色素生成菌 (FA 72 V, 及びFA 142 V株) は生成色素 ($\lambda_{max} = 579nm$)⁵⁾ や生育温度から *Janthinobacterium* sp. と考えられた。

3.5 α -ケラトース濃度と菌体外プロテアーゼ活性

W 50 Y株の酵素活性は培地中の α -ケラトース濃度に応じて上昇した (図5)。

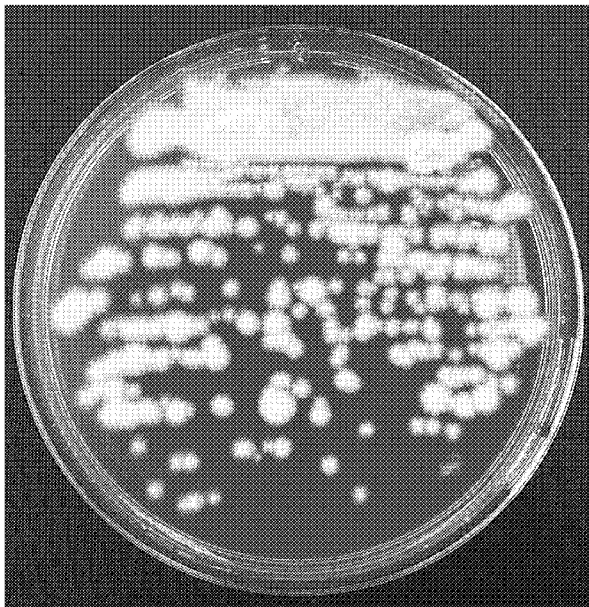


図4 *Penicillium* sp. W40Y株

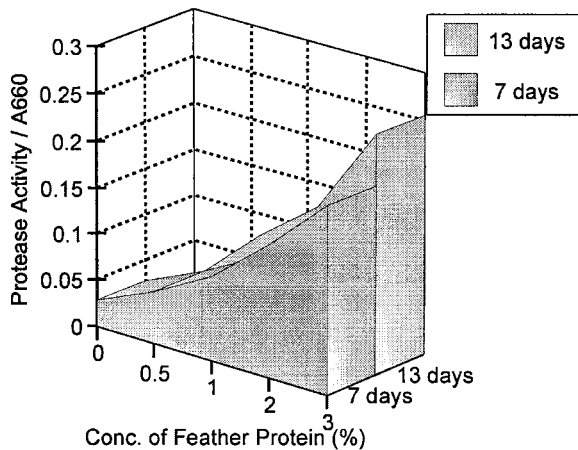


図5 培地中の γ -ケラトース濃度とプロテアーゼ活性 (アンソン-萩原の方法)

また、その酵素はPMSF等の阻害剤やEDTA (キレート剤) の影響を受けない種類のプロテアーゼであることが確認された。

4 考 察

ケラチンは、アミノ酸のみからなる単純タンパク⁶⁾であるが、その中でも溶解性の非常に低い硬タンパクに分類されており、その低溶解性がケラチンの積極的な利用を妨げていた。しかしながら、毛髪をはじめ、羽毛や羊毛の主成分であるケラチンには、各種必須アミノ酸がバランスよく含まれている。一般的なタンパクと比較するとシステイン含量が高いため、分子内に多くのジスルフィド結合を有し、そのままの状態では生分解されにくい。これを利用しやすい形で抽出することでその利用範囲が広がり、微生物の培養基質として用いることが可能となる。

今回、過酸化水素水、塩酸、及び水酸化ナトリウムという、安価な試薬のみを用いて、廃羽毛から2種類のタンパク (α -、及び γ -ケラトース) を高収率で、ほぼ定量的に得ることができた。当初は廃羽毛を、水洗、乾燥してから抽出を検討していたが、この行程は省略することが可能であり、洗浄水と洗浄時間、光熱費と乾燥時間の節約ができる。また、この抽出方法は白色羽毛 (白色レグホン種や白色コーニッシュ種など) 以外の、茶系 (赤鷄) の羽毛にも適用できる。著者らは γ -ケラトースの回収法として噴霧乾燥法を用いたが、他の回収法に凍結乾燥法もある。しかし、この方法は大量の溶液を処理するには非常に時間がかかることから、適性は低いと考えられる。

ケラチンタンパクの利用に関しては、ある種の機能性色素を生成する *Chromobacterium violaceum*, *Janthinobacterium* sp. (以上Violacein^{7, 10)}生産菌), *Serratia* sp. (Prodigiosin⁷⁾生産菌), *Pseudomonas fluorescense* (Pyovadin生産菌) などの細菌について、培養基質としての有効性が確認されている。また、サラダ菜の水耕栽培における液肥として用いた場合にも良好な生育を示すという情報もある。こうした結果からキノコ類の培養担体や植物の肥料等への利用も期待できる。そこで著者らは、難溶性であることから、利用分野が限定されると思われる α -ケラトースを微生物の培養基質として利用し、色素生成菌をいくつか分離できた。これらの分離菌の利用については、今後さらに検討を要する。

微生物の中には、菌体外へ著量の酵素を分泌するものがあり、工業的に利用されているものも多い。中で

も糸状菌はセルラーゼやプロテアーゼの供給源として重要である。プロテアーゼは、触媒残基やその阻害剤から、セリンプロテアーゼ、チオールプロテアーゼ、メタルプロテアーゼ、及び酸性プロテアーゼの4種に大別される¹⁰⁾。そして、強固な構造を持つ硬タンパク⁶⁾であるケラチンを分解する酵素は、プロテアーゼの中でも特別に「ケラチナーゼ」と呼ばれ、非常に興味を持たれている。

今回検討した糸状菌W 50 Y株の酵素はPMSFやEDTAの阻害を受けない種類のプロテアーゼであることから、チオールプロテアーゼ、もしくは酸性プロテアーゼに属するものと推測された。α-ケラトース濃度を3.0%以上にすることでさらにプロテアーゼ活性の上昇が期待されるが、α-ケラトースが元々難溶性であること、振盪培養時の発泡性なども考慮すると3.0%程度が適当であると考えられる。この菌の生成する酵素の利用に関しては、その単離・精製、至適温度や至適pHの調査など、さらなる検討が必要であるが、ケラチナーゼ生成菌として興味深いものである。

文 献

- 1) Alexander P., "Wool", Reinhold, New York, 356, 1954
- 2) 中村道徳, 実験農芸化学 第3版, 朝倉書店, 1978
- 3) 柳田友道, 微生物科学 1, 学会出版センター, 1980
- 4) 長谷川武治, 微生物の分類と同定, 学会出版センター, 1975
- 5) Krieg N. R., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.1, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1974
- 6) 赤堀四郎, 生化学講座 3 生体成分II, 共立出版, 1969
- 7) 高橋信孝, 丸茂晋吾, 大岳望, 生理活性天然物化学第2版, 東京大学出版会, 1981
- 8) DeMoss R. D., Evans N. R., : Incorporation of C¹⁴-Labeled Substrates into Violacein, *J. Bacteriol.*, **79**, 729-733, 1960
- 9) Sebek O. K., Jager H., : Divergent pathways of Indole Metabolism in *Chromobacterium violaceum*, *Nature*, **196**, 793-795, 1962
- 10) Naito S., Shiga I., Yamaguchi N., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **33**, 759, 1986
- 11) McCarthy S. A., Sakata T., Kakimoto D., Johnson R.M., : Production and Isolation of Purple Pigment by *Alteromonas luteoviolacea*, *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, **51**, 479-484, 1985
- 12) Hoshino T. Kondo T., Uchiyama T., Ogasawara N., : Biosynthesis of Violacein: a Novel Rearrangement in Tryptophan Metabolism with a 1,2-Shift of the Indole Ring, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 965-968, 1987
- 13) Hoshino T. Kondo T., Uchiyama T., Ogasawara N., : Biosynthesis of Violacein: Origins of Hydrogen, Nitrogen and Oxygen Atoms in the 2-Pyrrolidone Nucleus, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2733-2741, 1987
- 14) Hoshino T., Uchiyama T., Ogasawara N., : Blue Pigments from a Bacterium Isolated from a Soil : Structural Determination, Assignments of ¹³C NMR, and Some Structure-Antibiotic Activity Relationships, *Bull. Fac. Niigata Univ.*, **40**, 17-32, 1988
- 15) Hoshino T., Hayashi T., Uchiyama T., : Pseudo-odeoxyviolacein, a New Red Pigment Produced by the Tryptophan Metabolism of *Chromobacterium violaceum*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 279-282, 1994
- 16) Laatsch H., Thomson R. H., : Spectroscopic Properties of Violacein and Related Compounds : Crystal Structure of Tetramethylviolacein, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 1331-1339, 1984
- 17) Duran N., Campos V., Riveros R., Joyas A., Pereira M.F., Haun M., : Bacterial Chemistry-III : Preliminary Studies on Trypanosomal Activities of *Chromobacterium violaceum* Products, *An. Acad. bras. Ci.*, **61**, 31-36, 1980
- 18) 青木聡, 野村恭稔, 水谷裕, 橋本修, 松岡賢 : *Chromobacterium violaceum*のViolacein生成における羊毛粉末の効果, 繊維学会誌, **53**, 453-460, 1997
- 19) 赤堀四郎, 生化学講座 10 微生物の生化学I, 共立出版, 1969

Recovery of Protein from Waste Feather

Satoru AOKI, Mitsuo TOKORO

*Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences : 1-1 Naka-fudogaoka,
Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*

〈他誌掲載論文〉

Adsorption and Photocatalytic Decomposition of Odor Compounds Containing Sulfur Using $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ Beads

Harumitsu Nishikawa* and Yasumitsu Takahara**

* *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

** *Gifu Prefectural Livestock Research Institute*

J. Mol. Cat. A : Chem., **172**, 247-251 (2001)

Adsorption and photocatalytic decomposition of dimethyl sulfide (DMS) and dimethyl disulfide (DMDS) using an improved type of silica bead inner-supported with TiO_2 ($\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$) were investigated. Photocatalytic decomposition of DMS using the bead was about 100% at the space velocities of 33.5-134 hr^{-1} , whereas, that of DMS using surface-supported $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ was below 65% at the same conditions. The removal of DMDS in the lighting up condition from the start using the inner-supported bead was about 100% for 50hr at a space velocity of 67 hr^{-1} .

Extraction-flow Injection Spectrofluorimetric Measurement of Dissolved Oxygen in Environmental Waters Using 2-Thionaphthol

Tadao Sakai*, Hisashi Takio*, Norio Teshima* and Harumitsu Nishikawa**

* *Aichi Institute of Technology*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

Anal. Chim. Acta, **438**, 117-121 (2001)

A simple and highly sensitive flow injection analysis for the spectrofluorimetric determination of dissolved oxygen in environmental waters was developed. The decrease in fluorescence, which is based on the reaction of 2-thionaphthol with iodine liberated in Winkler's method, was utilized as the dissolved oxygen detection system. The relative standard deviation was below 1% and the detection limit was 4.9×10^{-7} mol/l.

Thermal Behavior of Hydroxyapatite in Structural and Spectrophotometric Characteristics

Harumitsu Nishikawa*

* *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

Materials Letters, **50**, 364-370 (2001)

The thermal behavior of stoichiometric hydroxyapatite (HAp) in structural and spectrophotometric characteristics was investigated to make clear the relation between the difference of optical properties by heat treatment and radical formation and to grasp the characteristics of photoexcitation. ESR signals appeared after heating over 900°C and the signals were assigned as O_2^- species. The strong oxydation would influence to the HAp sample with heating at 1150°C.

Adsorption and Photocatalytic Characteristics of Calcium Phosphate/Titanium Dioxide/Silica Composite Bead for Aldehydes

Harumitsu Nishikawa*, Zen-ichi Yamada**, Satoshi Takeuchi**,
Masaaki Maekawa** and Chisako Shirai**

* *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

** *Sinto V-Cerax, Ltd.*

Phosphorus Research Bulletin, **12**, 45-52 (2001)

Adsorption and photocatalytic characteristics of a new composite type of silica bead supported with calcium phosphate and TiO_2 for aldehydes removal were evaluated. The beads was suitable for the adsorption acetaldehyde. The removal with the bead for acetaldehyde is superior to that with silica bead supported with only TiO_2 in thr lighting up condition. The removal of formaldehyde was also complete by composite effects of adsorption and photocatalytic decomposition using the new bead.

Formation of Dioxins during the Combustion of Newspapers in the Presence of Sodium Chloride and Poly Vinyl Chloride

Akio Yasuhara*, Takeo Katami**, Takayuki Shibamoto***

* *National Institute for Environmental Studies*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

*** *Department of Environmental Toxicology, University of California*

Environ. Sci. Technol., **35**, 1373-1378 (2001)

Total amounts of dioxins found in the samples were 0.186ng/g from newspapers, 1.42ng/g from the branches of London plane, 102ng/g from newspapers impregnated with sodium chloride (Clwt%=3.1) and 146ng/g from newspapers mixed with PVC (Clwt%=5.1). Samples with a higher chloride content produced more dioxins, and there is a clear correlation between dioxin formation and chloride content. The results indicated that NaCl and PVC contribute significantly to dioxin formation from waste materials combusted in incinerators.

Relation of Hydrophobic Effect with Salt Effect: On the Viewpoint of Cluster Structure

Akihiro Wakisaka*, Yutaka Watanabe**

* *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

J. Phys. Chem. B, **106**, 899-901 (2002)

We have studied the salt effect on the clustering of a nucleoside (cytidine) in water by means of an electrospray mass spectrometer, which is specially designed for the analysis of clusters isolated from solution. In comparing the formation of cytidine clusters in the presence of NaCl, KCl, or MgCl₂, Mg²⁺ promoted the formation of cytidine clusters until octamer, whereas the effects of Na⁺ and K⁺ on the cytidine clustering was not as efficient as that of Mg²⁺. It was also demonstrated that the observed salt effect on the cytidine clustering is related to the structures of observed hydrated ions, that is, Mg²⁺ formed its hydrated clusters with less than 12 water molecules, whereas Na⁺ and K⁺ with less than 6 water molecules.

A New Resveratrol Octamer, Vateriaphenol A, in *Vateria indica*

Tetsuro Ito*, Toshiyuki Tanaka**, Ken-ichi Nakaya**, Munekazu Inuma**,
Yoshikazu Takahashi***, Hiroshi Naganawa***, Masayoshi Ohyama****, Yuka Nakanishi****,
Kenneth F. Bastow**** and Kuo-Hsiung Lee****

*Gifu Pharmaceutical University

**Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences

***Institute of Microbial Chemistry

****Natural Products Laboratory, School of Pharmacy, University of North Carolina

Tetrahed. Lett., **42**, 5909-5912 (2001)

A novel resveratrol octamer, vateriaphenol A, was isolated from stem bark of *Vateria indica* (Dipterocarpaceae). The structure and the relative configuration were confirmed on the basis of 1D- and 2D-NMR spectral data. Vateriaphenol A showed cytotoxicity against KB cells.

A Novel Bridged Stilbenoid Trimer and Four Highly Condensed Stilbenoid Oligomers
in *Vatica rassak*

Tetsuro Ito*, Toshiyuki Tanaka**, Ken-ichi Nakaya**, Munekazu Inuma**,
Yoshikazu Takahashi***, Hiroshi Naganawa***, Masayoshi Ohyama****, Yuka Nakanishi****,
Kenneth F. Bastow**** and Kuo-Hsiung Lee****

*Gifu Pharmaceutical University

**Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences

***Institute of Microbial Chemistry

****Natural Products Laboratory, School of Pharmacy, University of North Carolina

Tetrahedron, **57**, 7309-7321 (2001)

Vaticanol G and vaticaside D isolated from stem bark of *Vatica rassak* (Dipterocarpaceae) were the first instance of stilbenoid trimers with an unusual tribenzobicyclo [3.3.2] decatriene system. Vaticanols D and H - J were elucidated to be a stilbenoid hexamer or heptamer containing a structurally identical trimeric unit. Their structures and the relative configurations were established on the basis of 2D-NMR spectroscopy. The hexamers and the heptamer showed cytotoxicity against KB cells.

Vaticanol C, a Novel Resveratrol Tetramer, Inhibits Cell Growth through Induction of Apoptosis in Colon Cancer Cell Line

Tetsuro Ito*, Yukihiro Akao***, Toshiyuki Tanaka**,
Munekazu Iinuma** and Yoshinori Nozawa***

* *Natural Products Laboratory, School of Pharmacy, University of North Carolina*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

*** *Gifu International Institute of Biotechnology*

Biol. Pharm. Bull., 25, 147-148 (2002)

A novel resveratrol tetramer vaticanol C isolated from stem bark of *Vatica rassak*, *Vateria indica*, and *Hopea utilis* markedly suppressed cell growth through induction of apoptosis, which was characterized by the nuclear changes and DNA ladder formation in three different human colon cancer cell lines.

Antibacterial Activity of Extracts Prepared from Tropical and Subtropical Plants on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Tomoko Nitta*, Takashi Arai*, Hiromu Takamatsu*, Yuka Inatomi*, Hiroko Murata*,
Munekazu Iinuma**, Toshiyuki Tanaka**, Tetsuro Ito***, Fujio Asai***, Iliya Ibrahim***,
Tsutomu Nakanishi* and Kazuhito Watabe*

* *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

*** *Gifu Pharmaceutical University*

J. Health Sci., 48, 273-276 (2001)

The antibacterial activity of the extracts prepared from 181 species (75 families) of tropical and subtropical plants was screened against various types of pathogenic bacteria. Among the 505 extracts tested, 53 of them inhibited the growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The active extracts obtained from barks of *Shorea hemsleyana* and roots of *Cyphostemma bainesii* were separated to their components, some of which greatly reduced the viable cell number of MRSA. These active compounds were all identified as stilbene derivatives. Hemsleyanol D, one of the stilbene tetramer isolated from *S. hemsleyana*, was the most effective compound and had MIC of 2 μ g/ml.)

Stilbenoids in Lianas of *Gnetum parvifolium*

Toshiyuki Tanaka*, Ibrahim Iliya*, Tetsuro Ito*, Miyuki Furusawa*, Ken-ichi Nakaya*,
Munekazu Inuma*, Yoshiaki Shirataki**, Nobuyasu Matsuura***, Makoto Ubukata,
Jin Murata***, Fumio Shimozono*** and Kazunori Hirai***

* *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

** *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University*

*** *Graduate School of Science, The University of Tokyo*

Chem. Pharm. Bull., **49**, 858-862 (2001)

Five new stilbene dimers were isolated from the lianas of *Gnetum parvifolium* in addition to known stilbenoids. The structures of the compounds were established on the basis of spectroscopic evidence, including long-range coupling had nuclear Overhauser effect experiments, in NMR spectrum. Among the isolates, 2b-hydroxyampelopsin F showed potent inhibitory activity in the Maillard reaction.

Four New Glucosides of Stilbene Oligomers from The Stem of *Gnetum gnemonoides*

Ibrahim Iliya*, Toshiyuki Tanaka**, Miyuki Furusawa**, Ken-ichi Nakaya**, Munekazu Inuma*,
Yoshiaki Shirataki***, Jin Murata**** and Dedy Darnaedi*****

* *Gifu Pharmaceutical Univeristy*

** *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

*** *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University*

**** *Graduate School of Science, The University of Tokyo*

***** *Indonesian Institute of Sciences*

HETEROCYCLES, **55**, 2123-2130 (2001)

Gnetum gnemonoides (Brong) belongs to Gnetaceae, the leaves and fruits of the species are used as food and medicine in many parts of the tropical region. Various stilbene derivatives have been isolated from the Gnetaceous plant, however, no literature has reported on the occurrence of oligomeric stilbene glycoside in the plant. This paper described the isolation and structure elucidation of four new glucosides (named gnemonosides A-D) of dimeric stilbenes in the stem of *Gnetum gnemonoides*.

Hopeafuran and a C-Glucosyl Resveratrol Isolated from Stem Wood of *Hopea Utilis*

Toshiyuki Tanaka*, Tetsuro Ito*, Yoshimi Ido*, Ken-ichi Nakaya*, Munekazu Iinuma*
and Veliah Chellaurai**

* *Gifu Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences*

** *Survey of Medicinal Plants Unit, Central Council for Research in Ayurveda and Siddha*

Chem. Pharm. Bull., **49**, 785-787 (2001)

A new resveratrol dimer and a new C-glucosyl resveratrol were isolated from stem wood of *Hopea utilis* along with nine stilbenoid derivatives comprising bergenin and (+)-lyoniresinol. The structures have been elucidated on the basis of the spectroscopic evidence.

臭気排出強度による養豚農家の悪臭発生量評価

高原康光*, 森 千枝子**, 井奈波良一***

* 岐阜県保健環境研究所

** 岐阜県畜産研究所

*** 岐阜大学医学部

臭気の研究, **32**, 22-30, 2001

中規模の養豚農家を選定し、施設別の悪臭発生量調査を実施した。閾希釈倍数を用いて施設別の悪臭原因物質を推定した結果、離乳豚舎および肉豚舎は低級脂肪酸、母豚舎は硫黄系悪臭物質と低級脂肪酸、堆肥発酵施設はアンモニアと硫黄系悪臭物質であった。

各施設の漏洩ガス量を測定し、閾希釈倍数から求めた推定臭気濃度との積から臭気排出強度 (O.E.R.) を算出した結果、悪臭発生濃度の高い堆肥発酵臭気は比較的lowく、離乳豚舎および肉豚舎の値が高いことがわかった。これらの豚舎の悪臭発生要因はふん尿管理および畜舎構造に起因しており、特に夏季における悪臭対策の重要性が明らかとなった。

一寿司店員を発端としたA型肝炎ウイルスによる食中毒

安江智雄*, 大平恵美子*, 小林信行*, 日置敦巳**,
猿渡正子***, 青木 聡**, 野田伸司***, 所 光男***

*岐阜地域保健所 本巢・山県センター

**岐阜地域保健所

***岐阜県保健環境研究所

日本医事新報, No.4024, 29-32, 2001

寿司店員間での二次・三次感染5名, 店員から寿司を介した食中毒15名, 食中毒患者からの二次感染2名, および感染経路非特定1名, 計23名のA型肝炎患者の発生例について分析を行った。その結果, 感染症発生届の徹底, 届出動向の常時監視・分析, および医師による患者への指導等協力体制の強化が課題と考えられた。また食品取扱者でも, 貝類を生食する機会の多い者ではワクチン接種の必要性について考慮することが望ましいと考えられた。

＜学 会 発 表＞

○水環境試料中のダイオキシン類 (第2報)

村瀬秀也, 安田 裕, 大平武俊 (岐阜県保健環境研究所), 橋本俊次, 伊藤裕康, 森田昌敏 (国立環境研究所)

第10回環境化学討論会, 2001年5月, 松山市

○小型焼却炉におけるダイオキシン類の生成実態 (第4報)

形見武男, 岡 正人 (岐阜県保健環境研究所), 安原昭夫 (独立行政法人国立環境研究所), 奥田俊一, 加藤英明 (㈱富士清空工業所)

第10回環境科学討論会, 2001年5月, 松山市

○小型焼却炉におけるダイオキシン類の生成実態 (第5報)

形見武男, 岡正人 (岐阜県保健環境研究所), 安原昭夫 (独立行政法人国立環境研究所), 奥田俊一, 加藤英明 (㈱富士清空工業所)

第10回環境科学討論会, 2001年5月, 松山市

○学術賞受賞講演 悪臭の評価法と脱臭装置の開発に関する研究

高原康光 (岐阜県保健環境研究所)

第14回におい環境学会, 2001年6月, さいたま市

○臭気排出強度に基づく養豚農家の悪臭対策研究

高原康光 (岐阜県保健環境研究所), 森 千枝子 (岐阜県畜産研究所)

第14回におい環境学会, 2001年6月, さいたま市

○リン酸カルシウム/酸化チタン担持シリカビーズを用いたアセトアルデヒドの吸着・光触媒分解

西川治光 (岐阜県保健環境研究所), 山田善市, 竹内 聡, 前川正明 (新東Vセラックス㈱)

無機マテリアル学会第102回学術講演会, 2001年6月, 野田市

○溶融スラグにおける金属溶出挙動

岡 正人, 形見武男, 安田 裕 (岐阜県保健環境研究所)

第62回分析化学討論会, 2001年6月, 松本市

○腸管出血性大腸菌O157:H7感染者糞便中に産生されるIgA特異抗体の解析

吉岡良泰, 伊藤さおり, 横山慎一郎, 森 裕志 (岐阜薬科大学), 板垣道代, 山岡 清, 所 光男 (岐阜県保健環境研究所)

第5回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム, 2001年6月, 福岡市

○岐阜県における脳血管疾患年齢別死亡率の長期的推移について

田中 耕, 森 洋隆, 重村克巳 (岐阜県保健環境研究所), 日置敦巳 (岐阜地域保健所), 飯沼宗和 (岐阜県保健環境研究所)

第47回東海公衆衛生学会学術大会, 2001年7月, 名古屋

○A型肝炎ウイルスによる食中毒事例について

安江智雄, 大平恵美子, 小林信行 (岐阜県岐阜地域保健所本巣・山県センター), 猿渡正子, 野田伸司 (岐阜県保健環境研究所), 日置敦巳 (岐阜県岐阜地域保健所)

平成13年度日本獣医公衆衛生学会 (中部), 2001年8月, 長野市

○小型焼却炉でのダイオキシン類生成における塩素原子の動態

形見武男 (岐阜県保健環境研究所), 安原昭夫 (独立行政法人国立環境研究所)

第5回分析化学東京シンポジウム, 2001年9月, 千葉市

○インド産 *Vateria indica* のスチルベンオリゴマーの構造と生物活性

伊藤哲朗¹, 田中稔幸², 中屋謙一², 飯沼宗和², 赤尾幸博³, 野澤義則³, 高橋良和⁴, 長縄博⁴, 大山雅義⁵, 中西由香⁵, Bastow K.F.⁵, Lee K.-H.⁵
(1: 岐阜薬科大学, 2: 岐阜県保健環境研究所, 3: 岐阜県国際バイオ研究所, 4: 微生物化学研究所, ノースカロライナ大学)

日本生薬学会第48回年会, 2001年9月, 金沢市

○*Gnetum*属植物の成分 (3)

*Gnetum gnemonoides*のフェノール成分

イリヤ イブラヒム², 田中稔幸¹, 古沢 幸¹, 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹, 白瀧義明³, 松浦信康⁴, 生方 信⁴, 邑田 仁⁵, Darnaedi D.⁶ (1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 岐阜薬科大学, 3: 城西大, 4: 富山県立大学, 5: 東京大学, 6: ポゴール植物園)

日本生薬学会第48回年会, 2001年9月, 金沢市

○*Mallotus Philippinensis*のフラボノイド (2)

田中稔幸¹, 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹, 井戸好美², 白瀧義明³, 稲富由香⁴, 中西 勤⁴ (1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 岐阜県森林研究研, 3: 城西大, 4: 摂南大)

日本生薬学会第48回年会, 2001年9月, 金沢市

○メキシコ産生薬Raiz de Uvaの成分

アリ ズルフィカール¹, 田中稔幸¹, 古沢 幸¹, 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹, 北出幸夫², 稲富山香³, 中西 勤³ (1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 岐阜大学, 3: 摂南大学)

日本生薬学会第48回年会, 2001年9月, 金沢市

○フタバガキ科およびグネツム科植物のステルベンオリゴマーの構造と生物活性

伊藤哲朗¹, イリア イブラヒム¹, 田中稔幸², 中屋謙一², 飯沼宗和², 高橋良和³, 長縄博³, 赤尾幸博⁴, 野澤義則⁴, 大山雅義⁵, 中西由香⁵, Bastow K. F.⁵, Lee K.-H.⁵ (1: 岐阜薬科大学, 2: 岐阜県保健環境研究所, 3: 微生物化学研究所, 4: 岐阜県国際バイオ研究所, ノースカロライナ大学)

第43回天然有機化合物討論会, 2001年10月, 大阪市

○岐阜県における自殺死亡の発生について

田中 耕, 森 洋隆, 重村克巳, 飯沼宗和 (岐阜県保健環境研究所)

第60回日本公衆衛生学会総会, 2001年10月, 高松市

○タマネギ外皮中の生理活性成分について

古沢 幸¹, 田中稔幸¹, 土屋博紀², 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹ (1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 朝日大)

第82回日本食品衛生学会, 2001年10月, 長崎市

○河川環境中のダイオキシン類の解析

大平武俊, 村瀬秀也, 安田 裕 (岐阜県保健環境研究所)

第28回環境保全・公害防止研究発表会, 2001年10月, 仙台市

○乾式熱分解装置を用いたハロンの破壊処理

角田寛, 西川治光 (岐阜県保健環境研究所), 竹内章浩, 赤塚義正 (中部電力(株)), 相藤茂, 村上達夫, 古田貴之 (上田石灰製造(株))

第42回大気環境学会, 2001年10月, 北九州市

○溶融スラグの土木資材利用時の環境影響評価

岡 正人, 形見武男, 安田 裕 (岐阜県保健環境研究所), 渡辺祐二, 青山光治, 後藤益弘, 渡邊光雄 (可茂衛生施設利用組合)

第12回廃棄物学会研究発表会, 2001年10月, 横浜市

○透過性浄化壁工法による硝酸性窒素汚染地下水の浄化 (その3)

寺尾 宏 (岐阜県保健環境研究所), 副島敬道, 伊藤雅子, 今村 聡 (大成建設)

2001年日本地下水学会秋季大会, 2001年10月, 秋田県六郷町

○腸管出血性大腸菌O157:H7感染者糞便中に産生されるIgA特異抗体の解析

吉岡良泰, 伊藤さおり, 横山慎一郎, 森 裕志 (岐阜薬科大学), 板垣道代, 山岡一清, 所 光男 (岐阜県保健環境研究所)

第38回日本細菌学会中部支部総会, 2001年10月, 金沢市

○メチルメルカプタンに対する水酸アパタイトの光励起活性

西川治光 (岐阜県保健環境研究所), 大豆生田好市 (住友大阪セメント(株))

無機マテリアル学会第103回学術講演会, 2001年11月, 仙台市

○アルデヒドに対するリン酸カルシウム/酸化チタン
光触媒担持シリカゲルビーズの光触媒および吸着
特性

西川治光 (岐阜県保健環境研究所), 竹内 聡,
前川正明, 白井千佐子, 山田善市 (新東Vセラッ
クス ㈱)

第8回シンポジウム光触媒反応の最近の展開, 2001
年11月, 東京都

○農産物中のグルホシネート分析法の簡易化について

白木康一, 中屋謙一 (岐阜県保健環境研究所)

第38回全国衛生化学技術協議会年会, 2001年11月,
千葉市

○中毒患者血清およびハシリドコロ植物体中のアトロ
ピン, スコポラミンの分析法の検討

多田裕之, 白木康一, 吉田 勲, 中屋謙一, 飯沼
宗和 (岐阜県保健環境研究所)

第38回全国衛生化学技術協議会年会, 2001年11月,
千葉市

○ビタミン主薬製剤の内用液剤中のアルコール類の
分析

吉田 勲, 多田裕之, 白木康一, 中屋謙一, 飯沼
宗和 (岐阜県保健環境研究所)

第38回全国衛生化学技術協議会年会, 2001年11月,
千葉市

○内服固形製剤のバリテーション事業の実施とその後
のフォローアップについて

吉田 勲¹, 多田裕之¹, 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹,
板津吉紀², 奥村一信², 細川大二郎², 森林昭夫²
(1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 岐阜県健康福
祉環境部薬務課)

第34回東海薬剤師学術大会, 2001年11月, 岐阜市

○健康日本21と公衆衛生情報

—地方計画への参画事例「現状分析のための調査研
究」—

田中 耕, 森洋隆, 重村克巳, 飯沼宗和 (岐阜県
保健環境研究所)

第15回公衆衛生情報研究協議会, 2002年2月, 金
沢市

○食品廃棄物の有効利用

—タマネギ外皮中の成分について—

古沢 幸¹, 田中稔幸¹, 土屋博紀², 中屋謙一¹,
飯沼宗和¹ (1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 朝
日大歯)

平成13年度地方全国協議会東海北陸支部衛生化学部
会, 2002年2月, 石川県

○Gnetum 属植物の成分 (5)

Gnetum africanum のスチルベンオリゴマーの構造
イリヤ イブラヒム², 田中稔幸¹, アリ ズルフィ
カール¹, 古沢 幸¹, 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹ (1:
岐阜県保健環境研究所, 2: 岐阜薬科大学)

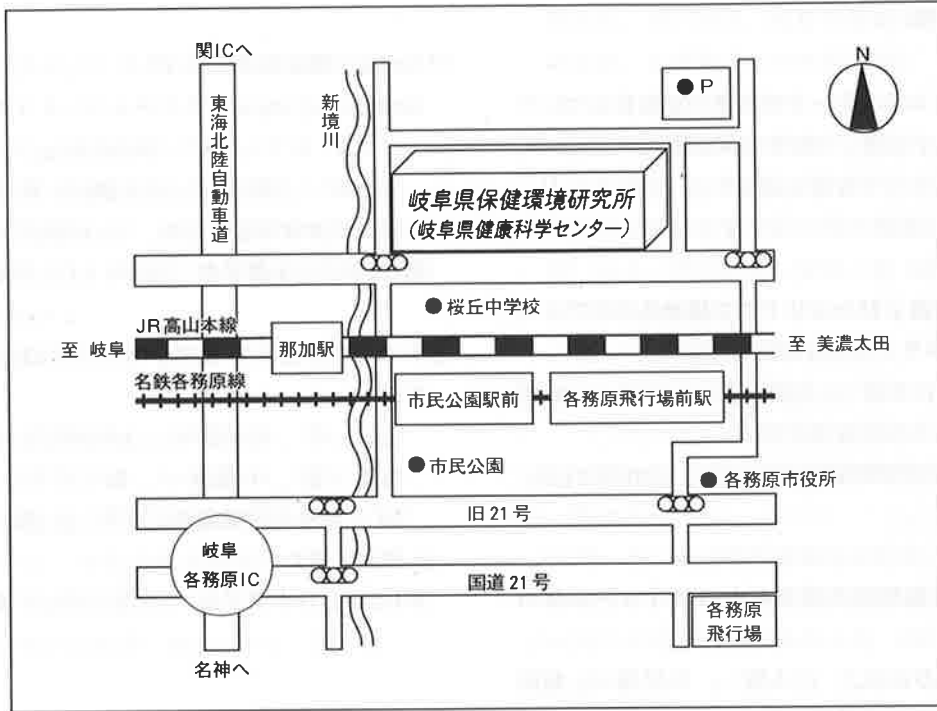
第122年会日本薬学会, 2002年3月, 千葉市

○タマネギに由来するフラボノイドの薬理活性と膜
作用

古沢 幸¹, 田中稔幸¹, 土屋博紀², 永山元彦²,
竹内 宏², 中屋謙一¹, 飯沼宗和¹, 邑田裕子³
(1: 岐阜県保健環境研究所, 2: 朝日大歯, 3:
摂南大薬)

第122年会日本薬学会, 2002年3月, 千葉市

所 光 男 (委員長) 高 原 康 光
野 田 伸 司 西 川 治 光
田 中 稔 幸



- 岐阜県保健環境研究所へのアクセス
- JR高山本線「那加駅」から徒歩約20分
 - 名鉄各務原線「市民公園前」「各務原飛行場前駅」から徒歩約15分
 - 東海北陸自動車道「岐阜各務原IC」から車で約10分

岐阜県保健環境研究所報

第10号 (平成14年度)

平成14年12月発行

編集発行 岐阜県保健環境研究所
☎504-0838 各務原市那加不動丘1-1
TEL 0583-80-2100 (代表) FAX 0583-71-5016

印刷所 山興印刷株式会社
☎504-0825 各務原市蘇原柿沢町2-9
TEL 0583-89-1414 FAX 0583-89-2627