

あるトラフグで高い病原性が確認されたことはこれまでの仮説と矛盾した。これらの結果から、betanodavirusの宿主特異性につながる生物学的特性は複雑であり、上記の4種の遺伝子型のみにより決定されるわけではないことが示された。

第4章では、本症の予防対策として、マハタのSGNNVに対する防御免疫反応とワクチンの可能性について検討した。SGNNVの人為感染を耐過したマハタの血清は1:158~1:1257の高いウイルス中和抗体価を示した。また、耐過魚あるいは非感染魚の血清で処理

したSGNNVをそれぞれキジハタに接種した結果、前者が有意に低い死亡率を示したことから、SGNNV感染耐過魚では獲得免疫が成立していることが示された。さらに、SGNNVの大腸菌組み替え外被タンパクを接種されたマハタは少なくとも110日間にわたり高い中和抗体価(平均1:160~1:480)を示し、また、感染実験における死亡率も対照区に比べて有意に低かった。これらの結果から、マハタにおけるVNNに対するワクチンの可能性が示唆された。

## 論文提出による博士学位

氏名	石川 健一
学位記番号	生博 乙第30号
学位記授与の日付	平成16年3月25日
学位論文題目	乳酸菌スターターカルチャーを用いた低食塩発酵漬物の開発
論文審査委員	主査 教授・小宮 孝志 教授・古市 幸生 教授・久松 眞 医学部教授・樋廻 博重

## 要 旨

ヨーグルト、チーズなどの発酵乳製品では、乳酸菌をスターターカルチャーとして利用する製法が一般的である。それらの利用は、食中毒菌や腐敗菌の生育阻止、品質の均一化、製造期間の短縮、好ましい風味の形成などの優れた利点がある。一方、漬物の製造では、乳酸菌を始めとするスターターカルチャーの利用技術はまだ確立されていない。厳寒な気候のもとで長期間かけて野菜を発酵・熟成させることで、腐敗を回避し、穏和な風味の形成が進行することが知られている。したがって低温発酵は低塩もしくは無塩の漬物の製造にとって有力な方法と考えられる。

そこで本研究では、低食塩発酵漬物を製造するための乳酸菌スターターカルチャー法を確立することを目的として、野菜、果物から分離された菌株、および酪農用菌株について、大根を用いたモデル系を利用して低温発酵能を有する乳酸菌を選択した。100株の乳酸菌を検定した結果、*Leuconostoc* sp. D-133株、*Lactobacillus casei* L-14株、*Pediococcus* sp. AG-1株、*Enterococcus faecium* ATCC 14432株、*Lactococcus diacetylactis* N-7株、*Lactococcus lactis* SC-10

株、*Lactobacillus acidophilus* A-100株、*Lactobacillus plantarum* AHU1526株、*Lactobacillus plantarum* N-3-2株などを選択した。このうち、特に優れていたD-133株とL-14株の2株は何ら栄養補給することなく緩やかに増殖し、有害微生物の生育を阻止して長期発酵を行うことができた。乳酸発酵大根の香気成分分析を行った結果、D-133株を接種して60日を経過すると「こく」や「まろやかさ」に関与するといわれている2,3-ブタンジオールが220  $\mu$ g/ml生成した。また、一定量以上の生成で不快臭となるアセトアルデヒド、アセトイン、ジアセチルはほとんど生成しなかった。一方、L-14株接種ではうま味成分である遊離グルタミン酸が増加することが明らかとなった。D-133株、L-14株を接種した大根では、対照と比べて褐変が抑制され、肉眼的にも白色が維持されたことから、乳酸菌接種による変色防止効果が確認された。

より豊かな風味を醸成し、さらにファージ汚染に対応するため、混合乳酸菌スターターの検討を行った。その結果、D-133株を $2.2 \times 10^6$ /g、L-14株を $3.5 \times 10^7$ /gの条件で赤かぶに混合接種し、10°Cで発酵させることで、発酵の初期段階でD-133株の菌数が増加し、不快なア

セトイン、ジアセチル、アセトアルデヒドの生成を抑制した。さらに、好ましい2, 3-ブタンジオールが多く生成することが明らかとなった。また L-14 株は  $10^7$ /g の菌数を維持し、発酵後期には主叢乳酸菌となることでうま味成分の増加が期待できると考えられた。この混合乳酸菌スターターカルチャーを赤かぶに接種し、18℃で6日、10℃で29日、0℃で145日発酵・熟成させた。その結果、発酵・熟成の経過とともに、アミノ態窒素の増加、微量の蟻酸の生成、遊離グルタミン酸の保持、 $a^*$ 値（赤さ）が高くなる、などの特徴が明らかとなった。

以上から、低食塩発酵漬物の開発において、(1) 乳酸菌スターターカルチャーの接種は必要不可欠である。(2) *Leuconostoc* 属と *Lactobacillus* 属の乳酸菌を混合して接種することにより、不快臭を発生せず、色調が良好であり、風味のよい発酵漬物となる。(3) 低温で熟成させることにより、過剰な酸味を発生させず、うま味を増加させることが可能である、などの結論を得た。このことにより、寒冷地が生産の中心だった発酵漬物を低食塩、温暖下で、そして安定して生産することが可能である。

## 論文提出による博士学位

氏名	茂木 弘之
学位記番号	生博 乙第31号
学位記授与の日付け	平成16年3月25日
学位論文題目	香辛料・色素成分のアポトーシス誘導による抗腫瘍作用に関する研究
論文審査委員	主査 教授・小宮 孝志 教授・古市 幸生 教授・今井 邦雄 医学部教授・樋廻 博重

## 要 旨

近年、日本人の食生活は経済の発展に伴い大きく変化した。そこには欧米諸国、中国、韓国や東南アジア諸国との経済交流が活発となり、その影響により食品の種類も多様化して食品加工が大きく進歩した。これを支えるものに香辛料や各種の添加物（色素、香料、保存料、調味料など）があると言える。

今日、食品が近代化したなかで香辛料は我々の生活に深く関わっている。すなわち、それらの香辛料の利用目的は呈味強化、風味強化、着色、マスキング、防腐、辛味強化、食欲増進などとなっている。さらに、食品栄養科学の目覚ましい進展により生体調節機能といって、上にあげた香辛料や色素などそこに含まれる非栄養素が生体内で活性酸素を捕捉・消去し、脂質の過酸化を抑制して老化や疾病（生活習慣病）の予防に貢献するものも少なくない。

本論文は、香辛料や色素成分の上記とは異なる新たな機能性としてアポトーシス誘導による抗腫瘍作用に関するものである。すなわち、15種類の香辛料の抽出物

のヒト白血病細胞（Molt 4B）に対する増殖抑制作用を調べた。その中で極めて、高い抗腫瘍活性を示したローレルに含まれる抗腫瘍活性物質の探索を行った。つぎに、ブドウ種子に含まれる色素成分の抗腫瘍活性物質の探索を行った。つづいて、それらの成分から単離した抗腫瘍活性物質の構造解析そしてそれらの作用機作、特にアポトーシス誘導について明らかにした。

はじめに、15種類の香辛料の天日乾燥粉末試料の80%エタノール抽出物について Molt 4B 細胞に対する増殖抑制試験を行った。その結果、濃度  $10 \mu\text{g/ml}$  でターメリックとローレルがほぼ100%に近い活性を示し、かつ両者の抽出物により Molt 4B 細胞の DNA の断片化、すなわちアポトーシスを誘導することが明らかとなった。

以上の結果から、ローレルに注目し、そこに含まれる抗腫瘍活性成分の探索を行った。特にローレルの精油成分に1,8-シネオールが約45%含まれており、揮発性成分である。1,8-シネオールによるヒト白血病細胞、Molt 4B、HL-60 およびヒト胃がん細胞 KATOIII に対して細胞増殖の影響を調べた結果、Molt 4B と HL-60 に強い