

## 生体内の微量元素に関する考察 (第3報)

### —亜鉛について—

舟 木 行 雄

#### A Consideration of the Trace Element in the Organism (Part—3)

—about Zincum—

Yukio Funaki

#### はじめに

亜鉛 Zincum (以下 **Zn**) は原子番号30番, 周期表における 2B 族, クラーク数 $4 \times 10^{-3}$  で第31位の元素である。典型元素と遷移元素の境界に位置し, 遷移元素としてあつかうこともある。電子配列は  $3d^{10}4s^2$  で配位数は 4, 5, 6, 8 である。酸化状態での酸化数は+2を示す。

自然界に広く分布しており, 地殻中の濃度は平均約76 ppmである。生体にとっては必須微量元素であり, 動物体内では体重の約0.003%を含有している。

**Zn** が動物に必要なことは古くから知られていて, ラットにおいては **Zn** 含量の少ない飼料での飼育では成長が阻害されることが1922年に認められている<sup>1)</sup>。

ヒトにおいては **Zn** 欠乏症を発現する可能性のある条件として, アルコール中毒症, 蛋白質不足, 熱量不足, 食物繊維やフィチンの過剰摂取, 妊娠状態などが考えられている<sup>2)</sup>。

また, **Zn** 不足のため皮膚炎や味覚異常が発現することも知られている<sup>3), 4)</sup>。

ミネラルの所要量については, 日本では **Ca** と **Fe** 以外は定めておらず, したがって摂取量の実態に関する報告も少ない<sup>5), 6), 7), 8)</sup>。

以下, 生体内の **Zn** について述べる。

#### I **Zn** の吸収

食餌性 **Zn** の消化時あるいは吸収時前の **Zn** 形態の詳細はまだ明らかにされていないが, 定性的に推量できる形態は無機の **Zn** および蛋白質性物質との結合 **Zn** の共

存形態と考えられている<sup>9)</sup>。しかし, その実態は明らかにされていない。

これより先に Suso ら<sup>10)</sup>は, ニワトリ小腸内の可溶性消化物から **Zn** が小腸内で蛋白質またはある種のアミノ酸と結合している可能性を認めている。

**Zn** の吸収機構は体内代謝と密接な関係にあると推定されているにもかかわらず明らかにされていない<sup>11)</sup>。

小腸における **Zn** の吸収とそれを促進する低分子配位子 (ヒスチジンを含む) の関係は **Zn** 吸収機構の解決の糸口になる<sup>9), 10), 12), 13), 14)</sup>。

一般的な傾向としてミネラルの栄養有効性は植物性食品より動物性食品の方が高い<sup>15), 16)</sup>。その理由として, 植物性食品中にはフィチン酸 (ミオイノシトール 6 リン酸), 有機酸, 食物繊維のような吸収阻害物質が多量に含まれているのに対し, 動物性食品中には吸収を促進する作用のあるプロモーターが含まれているからである。

Sandstrom ら<sup>15)</sup>のおこなったヒトにおける **Zn** 吸収に関する実験によれば, 表-1に示すように, 精製穀粉パン食に比べてフィチン酸や繊維を多く含有している全穀粉製パン食では **Zn** 吸収は低くなるが, 牛乳やチーズと同時に摂取すると高くなることを認めている。

表-1 ヒトの食餌構成からの **Zn** 吸収量

食 餌 構 成	<b>Zn</b> 吸収量 (mg)
全穀粉パン・バター・水	$0.29 \pm 0.02$
精製穀粉パン・バター・水	$0.48 \pm 0.04$
全穀粉パン・牛乳・チーズ	$0.46 \pm 0.04$
精製パン・牛乳・チーズ	$0.52 \pm 0.05$

**Zn** の吸収率は牛肉食に比べてダイズ分離蛋白質食は低く, 煮熟ダイズ分離蛋白質食ではさらに低下するが,

表-2 ラットの体重増加と Zn 保留に対するフィチン酸と食物繊維の相乗阻害効果

体重増加・(g/28日)				
食 群	10%蛋白質食	20%蛋白質食	30%蛋白質食	
A 標 準	89.6±6.6	156.0±3.8	140.0±4.6	
B パ ン	77.6±3.6	94.4±1.4	110.0±3.4	
C フィチン酸添加	55.0±1.8	70.4±4.5	73.5±2.3	
D 食物繊維添加	99.7±4.7	149.0±4.1	152.0±5.7	
E C+D添加	45.4±2.1	74.1±3.7	83.5±4.3	

Zn 保留率 (摂取量に対する%)				
食 群	10%蛋白質食	20%蛋白質食	30%蛋白質食	
A 標 準	38.3±2.2	65.7±2.0	63.0±1.6	
B パ ン	28.9±1.8	35.5±2.6	41.0±3.2	
C フィチン酸添加	26.1±1.2	32.1±2.2	38.6±2.2	
D 食物繊維添加	49.8±1.2	62.7±1.0	65.9±1.8	
E C+D添加	19.7±2.7	38.4±1.3	46.3±4.8	

飼料中の Zn 濃度15ppm, Ca 濃度1.2%; 標準食および添加食の蛋白質は卵白アルブミン; パン食は40%全穀粉パン

動物性食品の示すプロモーター作用は、その高蛋白質含量のことだけでは説明することができない<sup>16)</sup>。

植物性食品の Zn 吸収が低いことについては前述したようにミネラルの吸収を阻害する物質としてフィチン酸とシュウ酸がある。Oberless ら<sup>17)</sup>は、これらの酸とミネラルのコンプレックスは腸腔内の pH では難溶であるために多量の沈澱を生成し、そのために糞中に排出されるミネラルが多くなる。さらに、Ca はフィチン酸が他の金属イオンと不溶性コンプレックスを形成するに際して相乗効果がある、としている。

一例を示すと、Zn とフィチン酸の混合系に Ca を添加すると不溶性 Zn コンプレックス量が顕著に増加し、同様の現象がフィチン酸と Mn もしくは Cu の系に Ca を加えた場合にもみられる。

ラットによる実験で、粗びきコムギ粉からつくったパンに含まれる Zn の有効性に対する蛋白質レベル、フィチン酸、食物繊維添加の影響を調査した結果では、表-2に示すように、飼料中の蛋白質レベルが低い場合にはフィチン酸と食物繊維の間に強い相乗作用がみられる<sup>18)</sup>。この実験結果から、食餌中蛋白質レベルが低く、摂取エネルギーの大部分を穀類に依存する場合には食餌に含まれる Zn の栄養有効性が著しく低い、といえる。

かつて、イラン、エジプトの農村地方にみられたヒトの Zn 欠乏症<sup>19)</sup>は、食餌からの Zn の摂取量が少なかったためというよりも、前述のことから Zn の栄養有効性

の低い食餌構成であったことがおもな原因となって発現したと考えられる。このことについては後述する。

微量元素の吸収に関しては、ミネラル間相互の作用で腸管からの吸収機構の上で拮抗し合うものがある。たとえば、Cu と Zn, Co と Fe, Cu と Mo の間の拮抗作用である。

体内での生理活性の発現にあたっての拮抗作用は、Zn と Cu に関しては Zn を大量に摂取すると Cu 欠乏性貧血症が発現する。

表-3は Cu の生理活性セルロプラスミン活性に対する Cd と Zn の拮抗作用をみたものである<sup>20)</sup>。

表-3 飼料に添加した Cd と Zn が血漿セルロプラスミン活性に及ぼす影響

Zn 添加量 (mg/kg)	Cd 添加量 (mg/kg)			
	0.16	1.5	6.1	18.0
セルロプラスミン活性				
30	43.5	18.2	9.3	6.5
300	27.4	17.0	5.2	4.9
1000	9.5	5.0	5.1	3.7

なお、Cd は Zn に比べると著しく食餌性 Cu の利用率を低下させているが、この作用は Cd の示す毒性の一端を説明している。また、Ca を大量摂取すると Zn 欠乏症が発現する。この Zn と Ca 間の拮抗現象はフィチン酸が共存するとさらに著しくなる<sup>20)</sup>。

Mills<sup>21)</sup>はラットについて、体重増加量 (g/day) と飼料中の **Zn**, **Ca**, フィチン酸量 (mol/kg diet) の間に次式の関係が成立することを考えた。

$$\text{体重増加量} = 6.213 - 0.331[\text{Ca}]/[\text{フィチン酸}]/[\text{Zn}]$$

また、池田<sup>22)</sup>は *in vitro* で牛肉の蛋白質消化に伴う食品 **Zn** の存在形態およびその変化を検討した結果、牛肉のペプシン消化 3.5 時間後に含まれる **Zn** の大部分が可溶化した。次に続くトリプシン消化時間後では可溶化した **Zn** の約 56% が再び未消化残渣に移行することが判明した。**Zn** のこの形態変化をひき起す要因の一つとして、蛋白質消化条件下の pH 変化が考えられ、牛肉の蛋白質消化時に可溶化した **Zn** はゲル濾過の結果から分子量 10,000 以上の蛋白質に結合していることと、可溶性 **Zn** には無機態の **Zn** は含有していないことが判明した。

以上の結果は牛肉に含まれる **Zn** がその消化時には **Zn** と高い反応性を示す蛋白質性の物質に結合した形態で消化管内を移行することを示唆している。

## II **Zn** と酵素

まず、生体系における金属酵素中のルイス酸としての作用は **Zn** が第一に反応し、さらに **Mg**, **Ca**, **Mn**, **Ni** が選択的に反応する。

正常な生物学的条件下において酸化・還元容易に反応する金属イオンがルイス酸としての反応が必要とする蛋白質から脱離すると考えられるので **Zn**, **Mn**, **Ni**, **Ca** の酸化・還元は容易に反応しない。

**Zn** がルイス酸として広く用いられる理由は次の (1)~(5) による。

(1) **Zn(II)** は  $d^{10}$  イオンであり、特有の配位数や配位の位置を決定する付随配位子場の影響を受けない。

(2) **Zn(II)** 上の配位子交換過程は速やかに起こり、そのための基質や生成物は容易に導入されたり除去されたりする。

(3) **Zn(II)** は適当に効果的なルイス酸で多くのモデル系において活性を示す。

(4) **Zn(II)** は低い pH では加水分解されてヒドロキソ錯体を形成しない。aquo $\text{Zn}^{2+}$  の pKa は約 8.8 である。

(5) **Zn(II)** は生物学的条件下では酸化・還元反応を示さない。

次に酵素における **Zn** の反応について述べる。

**Zn(II)** は  $d^{10}$  イオンであるが、遷移金属イオンの性質と類似していることから水溶液中では **Zn(II)** 以外の酸化状態は存在しない<sup>23)</sup>。

**Zn** は前述したように主にルイス酸として反応し、金

属酵素であるカルボキシペプチダーゼやカルボニクアンヒドラーゼなどに存在している。その作用は **Zn** 化合物が一般に緩衝液として生体中の pH 調節をしている。

生体中には約 18 種の含 **Zn** 金属酵素と  $\text{Zn}^{2+}$  によって活性化される約 14 種の酵素がある。

**Zn** は対称的な  $d^{10}$  軌道をもつイオンであり、酸素や窒素などの電子供与体と強い相互作用を示す<sup>24)</sup>。

含 **Zn** 酵素を数例あげる

### 1. カルボキシペプチダーゼ

カルボキシペプチダーゼのうちカルボキシペプチダーゼ C は金属酵素ではなく、カルボキシペプチダーゼ A, カルボキシペプチダーゼ B は **Zn** を含む酵素である<sup>25)</sup>。

カルボキシペプチダーゼ A については図-1 に示す錯体が考えられている<sup>26), 27)</sup>。

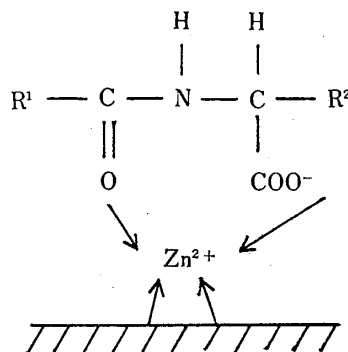


図-1 カルボキシペプチダーゼ A の錯体部

カルボキシペプチダーゼ A とカルボキシペプチダーゼ B はアミノ酸配列が決定され、それらの構造は X 線回析によって確立されている。カルボキシペプチダーゼ A は分子量 34300 で 307 個のアミノ酸残基からなる 1 本のペプチド鎖で 1 原子の **Zn** を含んでいる。

カルボキシペプチダーゼ B は 308 個のアミノ酸残基から成り、その配列の 49% がカルボキシペプチダーゼ A の部分と同一で 1 原子の **Zn** を含んでいる。

これら A, B 2 種のカルボキシペプチダーゼの三次機構はよく類似していて、それら分子中の  $\text{Zn}^{2+}$  は酸性あるいは中性においてキレート剤あるいは 1,10-フェナントロリンを含む緩衝液に対して透析することによって除去でき酵素活性が失われるが、それは **Zn** が除去される度合と正確に並行している。

**Zn** の除去についての蛋白質への影響は全体的な構造には影響しないと考えられ、未変化の酵素と **Zn** を除去した酵素の施光性と沈降性は同一で、アポ酵素に **Zn** を結合させると触媒活性は再活性する。

また、ある種の遷移金属イオンは  $\text{Zn}^{2+}$  と置換することが可能で、ペプチダーゼ活性を再生させることができ

る。たとえば,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  などが以前に  $\text{Zn}^{2+}$  が結合していた部位に結合し活性を再生することである<sup>28)</sup>。

カルボキシペプチダーゼAとカルボキシペプチダーゼBの活性部は非常に類似している。カルボキシペプチダーゼAの活性部における  $\text{Zn}$  の配位を図-2に示す。

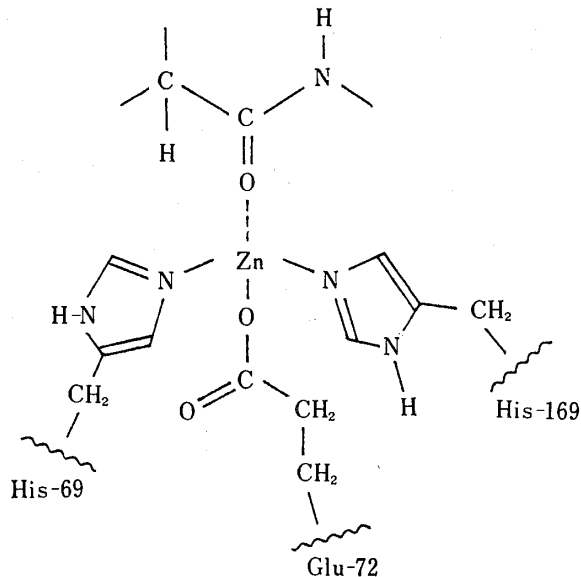


図-2 カルボキシペプチダーゼの活性部における  $\text{Zn}^{2+}$  の配位

図-2をみると,  $\text{Zn}$  はヒスチジン残基 2 つ (His-69, His-169) とグルタミン酸残基 (Glu-72) および  $\text{HO}^-$  に配位している。

基質分子は  $\text{Zn}$  の水配位子を  $\text{Zn}$  に配位しているペプチド酵素で置き換える。

グリシン-L-チロシン基質を含むカルボキシペプチダーゼAの結晶構造は, アミドカルボニル基が  $\text{Zn}$  の配位子であることを示している。配位しているカルボニル基は極性をもち, 図-3に示すように Glu-270 により活性化された水分子によって攻撃され, その結果, 四面体の中間産物は Tyr-248 による窒素のプロトン化を受け, アミンとカルボン酸に分解する。

さらに別の機構では図-4に示すように, 一般的な塩基というより求核試薬として働く Glu-270 が関与している。この場合は混合無水物中間体が形成され, それがさらに加水分解される。

上記のペプチドのカルボニル基が  $\text{Zn}$  に結合する機構にさらに  $\text{Zn}$  と結合した水酸化物イオンが基質のカルボニル基を攻撃するような機構も考えられている。

## 2. カルボニクアンヒドラーゼ

本酵素は動物, 植物, ある種の微生物中に存在する

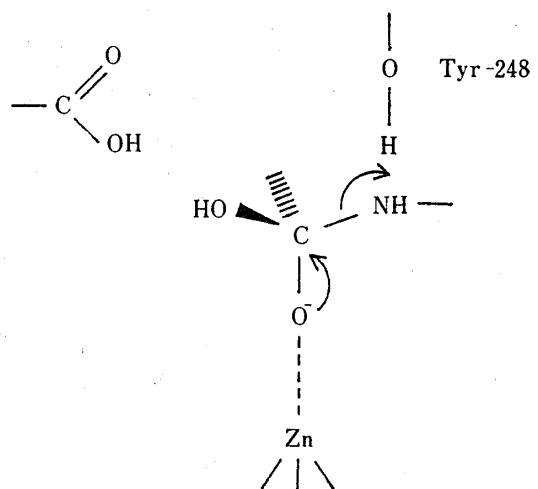
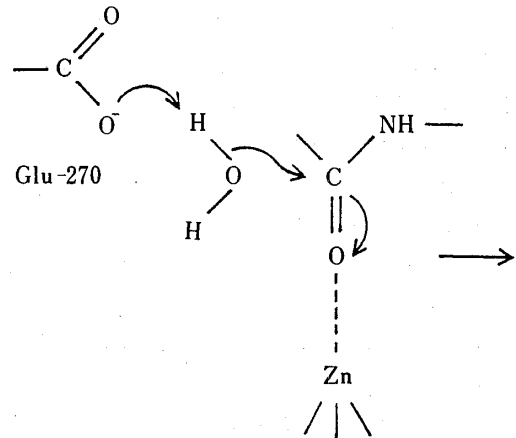
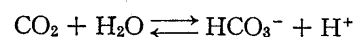
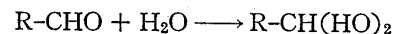


図-3 Glu-270を一般塩基として含むカルボキシペプチダーゼA (ペプチド基質)の  $\text{Zn}$ -カルボニル機構

$\text{Zn}$  酵素で, 二酸化炭素の可逆的な水和を触媒する。



また, 各種のアルデヒドの水和やエステル, スルトン (1,8-ナフトール・スルホン酸の誘導体) の加水分解も触媒する。



生物界ではやや異なったカルボニクアンヒドラーゼ A, B, Cが存在し, そのうち最も深く研究されている酵素はヒトとウシのカルボニクアンヒドラーゼBで, 分子量 30000, 強力に結合している  $\text{Zn}$  1原子を含む単量体である。

二酸化炭素水和の代謝回転数 (分子活性) は約  $10^6 \text{s}^{-1}$  で, これは  $37^\circ\text{C}$  (体温) において 1モルの酵素が  $10^6$ モルの二酸化炭素を水和することを示している。

非酵素的な水和の速度は  $7 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$  であるからカルボニクアンヒドラーゼによる速度の促進は  $10^9$  倍の単位である。

Lindskog ら<sup>29)</sup>は  $\text{Zn}$  を O-フェナントロリンと錯体に

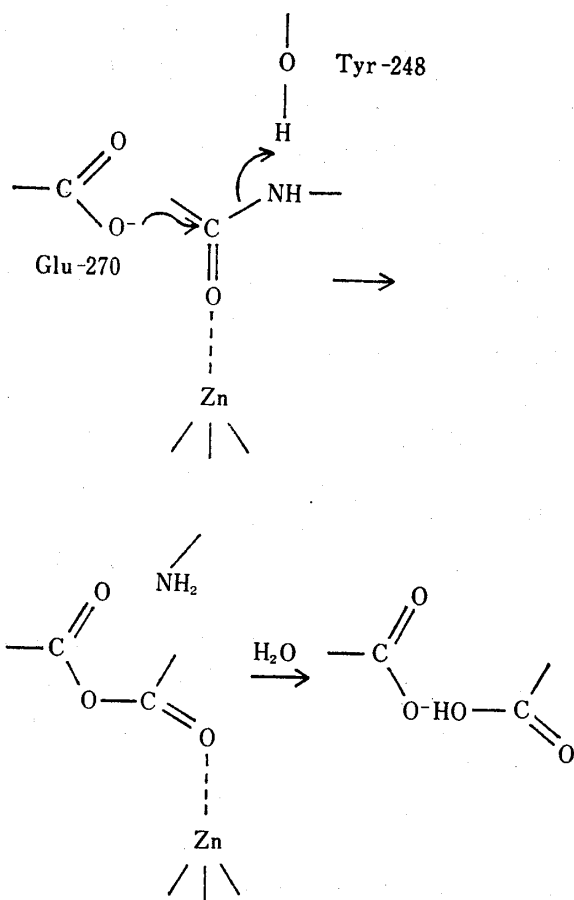


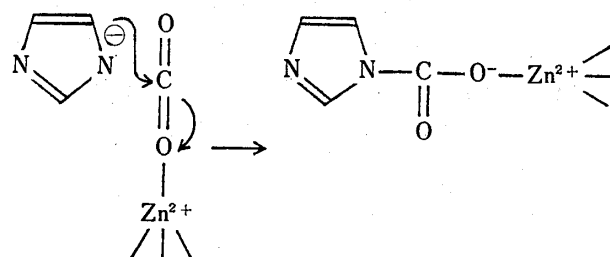
図-4 カルボキシペプチダーゼAの別のZn-カルボニル機構

し、それを透析で除去する方法で蛋白質の変性を起させないで強力に結合しているZnを除去することに成功した。金属(Zn)を除去した蛋白質部(アポ酵素)は不活性であるが、アポ酵素1モルに対し1原子のZnを加えることによって活性は回復する。

施光分散法により、アポ酵素の未変性の酵素が同じ三次構造であることが知られ、Znが三次構造の安定化のための役割ではなく、酵素の触媒作用に直接関与していることも判明している。

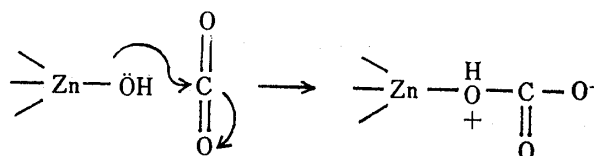
カルボニクアンヒドラーゼの作用機構については諸説があり、その主な考えとしてはヒスチジン基(Znに結合している、または結合していない)のイオン化、配位しているイミダゾールイオンによる二酸化炭素の求核攻撃〔図-5(1)〕、あるいはZn-配位水のイオン化と-OHによる二酸化炭素の求核攻撃〔図-5(2)〕のいずれかを仮定している。

また、Kannenら<sup>30), 31)</sup>はヒトのカルボニクアンヒドラーゼBイミダゾール錯体を調査した結果、図-6に示す水合一脱水機構を提した。すなわち、Zn結合水の



(1) Znカルボニル機構

配位しているイミダゾールイオンによるCO<sub>2</sub>の求核攻撃



(2) Zn水酸化物の機構

Zn-配位水のイオン化と-OHによるCO<sub>2</sub>の求核攻撃

図-5 カルボニクアンヒドラーゼの作用機構の2つの仮定

pKは金属イオンの電荷の分布によって約7.0に低下し、また、Thr-199を介しての水素結合によりGlu-160によっても低下が促されることである。

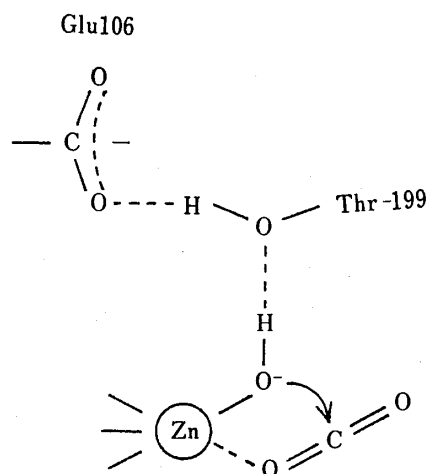
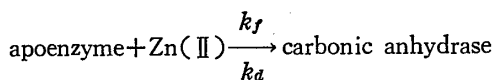


図-6 カルボニクアンヒドラーゼの水合一脱水機構

Glu-160が一般的な塩基として作用し、Znは5配位であり、ルイス酸触媒として作用するので、二酸化炭素がZnの第5の部位に結合している。この機構はZn水酸化物機構とZnカルボニル機構の両面の特色を備えている。

アポカルボニクアンヒドラーゼを用いて金属イオンのアポ酵素に対する反応に関しては多く研究されている。

**Zn** とアポ酵素の反応による金属酵素形成の反応は、**Zn** についてもアポ酵素についても一次反応で、その反応速度定数  $k$  は、 $10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$  ( $25^\circ\text{C}$ ) で、金属蛋白質形成を活性化するエンタルピーは約  $86 \text{KJmol}^{-1}$  である。小さな配位子と **Zn** の反応の相当する熱力学的なパラメーターは、 $\Delta H = 26 - 30 \text{KJmol}^{-1}$  で、**Zn** カルボニクアンヒドラーゼの形成を用いて次式から解離速度定数 ( $k_d$ ) を計算することができる。



$$K = k_f/k_d \quad [k_d = 1.5 \times 10^{-9} \text{s}^{-1} (25^\circ\text{C})]$$

### 3. アルコールデヒドロゲナーゼ

本酵素はアルコールとアルデヒド間の可逆的酸化・還元反応を触媒し、ピリジヌクレオチド依存性の酵素である。

本酵素は分子量 40000 の 2 個の同一なサブユニットから成り、酵素 1 モルに対し 4 原子の **Zn** を含み、2 モルの  $\text{NAD}^+$  を含んでいる。**Zn** の結合に関しては X 線回析により 2 種の型の結合があることが判明している。

その 1 種は活性中心の **Zn** は蛋白質の表面から約  $25 \text{\AA}$  の裂け目の中の疎水性のポケットの底部に位置している。**Zn** に配位している配位子は 2 個のシステイン (Cys-46, Cys-174) の S とヒスチジン (His-67) のイミダゾール基である。

他の 1 種は **Zn** が酵素の表面近辺に位置しているが、

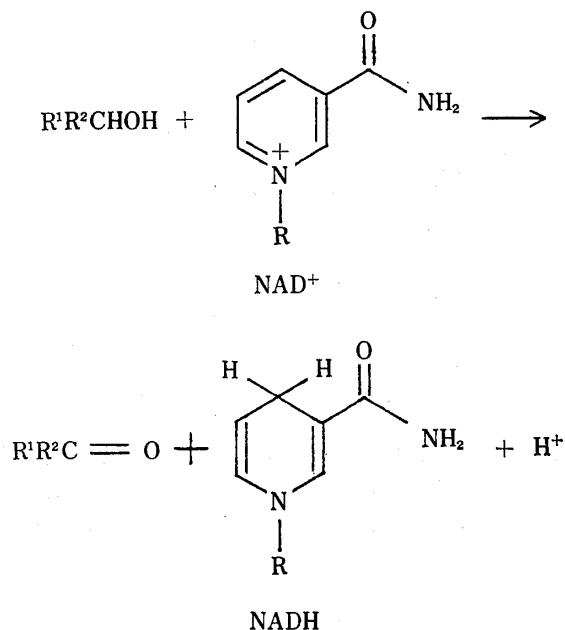


図-7 アルコールデヒドロゲナーゼの反応の概略

溶媒には接触していない。この場合は配位している基は 4 個のシステイン (Cys-97, Cys-100, Cys-103, Cys-111) の S である。**Zn** の活性中心は求電子中心として働き、**Zn** アルコキッド錯体の形成を介して水和体の  $\text{NAD}^+$  への転移を促進すると考えられている。全体としての反応を図-7 に示すが、この種の **Zn** 中心の機構はまだ解明されていない。

本酵素の活性中心の構造略図を図-8 に示す。

本酵素における **Zn** の役割は種々説があるが、反応は一般にアルデヒドまたはケトンが適当なアルコールへと変換する方向へ進む、と考えられていて、これらの役割は次の 3 つの仮定によるものとしている。

(1) **Zn** 結合水が基質によって置換され、**Zn** による基質カルボニル基の極性化が引き起される。

(2) **Zn** 結合水が水素結合によって基質分子を活性化する。

(3) 基質分子と水分子が含む中間体の 5 配位 **Zn** 錯体が存在し、基質分子は **Zn** への配位によって、あるいは Ser-48 と His-51 に結合している **Zn** 結合水からのプロトンの転移によって活性化される。

以上の 3 つの仮定の反応を図-9 に示す。

これらの仮定の機構において、**Zn** は主としてルイス酸として機能し、カルボニル基が水酸化物イオンあるいは  $\text{NADH}$  からの電子転移による求核攻撃を受けやすいようにしている。また、これらの仮定の機構は種々の研究によって証明されつつあり、 $\text{Zn}^{2+}$  や他の金属イオンの  $=\text{C}=\text{O}$  基や  $=\text{CHOH}$  基の反応性への影響の調査のため多種研究されている。たとえば、1, 10-フェナントロリン-2 カルボキシアルデヒドがアセトニトリル溶液中で、1, 4-デヒドロニコチンアミドによって相当するカルビノ

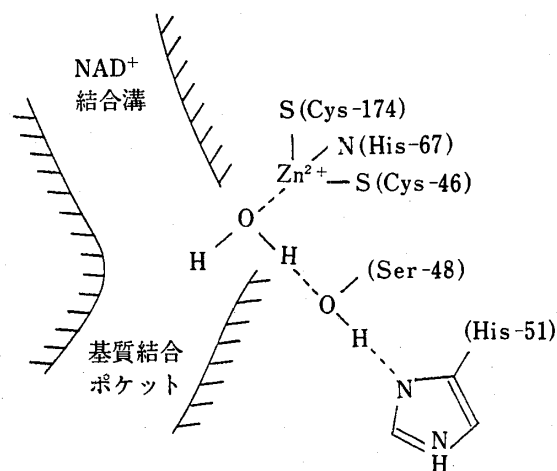
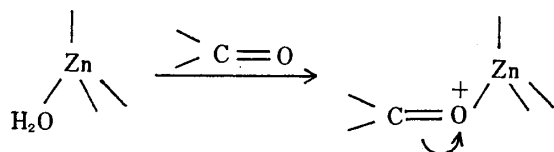
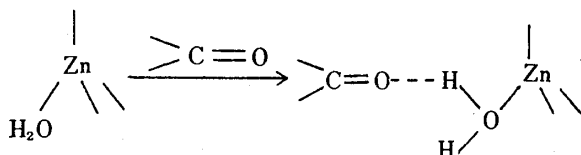


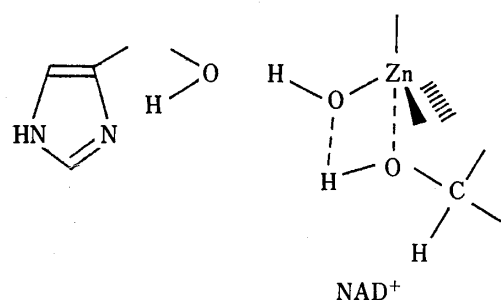
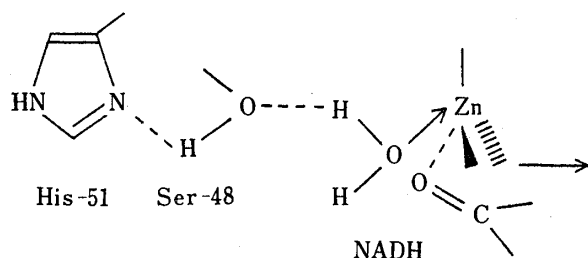
図-8 ウマ肝臓アルコールデヒドロゲナーゼ活性部



- (1) Zn結合水が基質によって置換され、Znによる基質カルボニル基の極性化が起る。



- (2) Zn結合水が水素結合により基質分子を活性化する。



- (3) Zn結合水からのプロトンの転移により活性化する。

図-9 アルコールデヒドロゲナーゼにおけるZnの役割

ールへと還元される反応をZnが触媒することで、この研究ではZnが無くては還元反応はおこらない。おそらく、この反応はZn錯体の形成を含むのではないかと考えられている<sup>33, 34), 35)</sup>。

### III 疾病とZn

疾病の種類によっては体内のZn量が正常値と異なることがある。

正常ヒト白血球中Zn含量は $3.2 \times 1.3 \times 10^{-16} \mu\text{g}/10^6 \text{ cell}$ と報告されている。

白血病患者の白血球中Zn含量は正常者の含量の10%であり、白血病の経過中に一時的治療による緩解がある

と、これら細胞内のZn含量もそれにもなって正常値に達する<sup>36)</sup>。

白血球中にはカルボニクアンヒドラーゼは存在しないので、これら細胞中のZnの機能についてはまだ解明されていない。また、糖尿病患者の脾臓中のZn含量が正常者の含量の50%であることにも注目する。

Valleeら<sup>37)</sup>は、いわゆる postalccoholic cirrhosis の患者にZn欠乏状態の発現することを認めている。

Laennec 肝硬変患者は血清中Zn濃度の平均値は $66 \pm 19 \mu\text{g}/100\text{ml}$  (正常値は $120 \pm 19 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ) で、肝硬変患者ではZnの尿中排出量も増加する。剖検によっても肝硬変で死亡した患者の肝臓組織は、肝臓疾病以外の疾病で死亡した患者の肝臓組織と比較するとZn濃度が明らかに低い。肝硬変患者におけるZn欠乏はZnの正常摂取量を侵すように作用する基礎的疾病に関連した二次的な因子のためではないかと考えられている<sup>38)</sup>。

### IV 重金属とメタロチオネイン

重金属と生体に関して、1957年にウマの腎皮質からCdを多量に含む低分子蛋白質であるメタロチオネインが発見され<sup>39)</sup>、以後この物質に関する知見は次第に蓄積され、性質、生合成、各種金属との親和性および生体内での存在意義など生体にとって重要な物質であることが明らかにされ、また議論されている。その主なことを(1)~(4)に述べる。

(1) 分子量は10,000以下の低分子蛋白質であり、全組成アミノ酸残基の約30%がシステイン残基であり、芳香族アミノ酸をほとんど含まない。

(2) 本蛋白質は主として肝臓で合成されるが、その合成は動物がCdを摂取することにより誘導される。

(3) Cdのみではなく、Hg, Zn, Cuによっても誘導されるが、チオネイン(メタロチオネインのアポプロテイン)の各金属に対する親和性は、 $\text{Hg} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn}$ である。しかし、メチル水銀との親和性は非常に弱い。

(4) 重金属に対する生体の防御機構の一つとしてメタロチオネインの果す役割、たとえば、Cdに対性を獲得した動物の臓器に本蛋白質が含まれている。

以上、メタロチオネインの生体における重要性の主なことをあげたが、現在まで陸生の哺乳類ばかりでなく海生の哺乳類、魚類、貝類、カビ類、培養細胞などにもメタロチオネイン様の蛋白質の存在が確認されている。それらの数例を次に述べる。

(1) Olafsonら<sup>40)</sup>は、ハイイロアザラシとオットセイの肝臓ホモジネートおよびメバル類に塩化カドミウムを

筋肉内に注射した後の肝臓ホモジネート上清画分についてメタロチオネイン様蛋白質の存在を認めた。

(2) Noël-Lambot<sup>41)</sup>は、ムラサキガイ<sup>41)</sup>、タマキビ<sup>42)</sup>など数種の貝類中のメタロチオネインの存在を認めた。

(3) 山本ら<sup>43)</sup>は、Cu 0.1 ppm の飼水で生活させたコイの肝臓可溶性画分について実験した結果、Cu によりコイ肝臓にメタロチオネイン様蛋白質が誘導合成されることを明らかにした。

(4) Brown ら<sup>44)</sup>は、動物プランクトンや藍藻類中にメタロチオネインの存在を認めた。

(5) 武田ら<sup>45)</sup>は、カツオ肝臓からメタロチオネインの単離精製をおこなった。

以上のように各生体中にメタロチオネインあるいはその関連蛋白質の存在が認められているが、本蛋白質の生物学的作用についてはまだ充分解明されていない。しかし、考えられていることは、金属の貯留、金属の解毒作用、金属の毒性防御作用、金属の転移、免疫応答および必須金属元素の代謝などである<sup>46)</sup>。

メタロチオネインおよびその関連蛋白質の本来の作用は上記に示した必須微量元素中数種 (Zn, Cu) の代謝を制御することではないか、と考える。

## V Zn 欠乏症

一般に、ある元素の生体内状態が潜在的に欠乏状態であると、他の元素の大量摂取によって両元素が相互作用を示し、前者の欠乏元素による欠乏症をひき起こすことが知られている。

Zn においても Zn 欠乏準備状態の動物に Cd を摂取させるとメタロチオネインが誘導合成され、このメタロチオネインは同時に Zn と結合することによって体内では局所的な Zn 欠乏症を発現する<sup>47)</sup>。

次に、植物、家畜およびヒトの Zn 欠乏症について述べる。

### 1. 植物の Zn 欠乏症

植物において Zn が欠乏すると、体内の全蛋白質レベルが顕著に低下し、水溶性窒素化合物中とくに遊離アミノ酸とアミド類が集積される<sup>48)</sup>。この現象は、Zn の欠乏が体内での正味の蛋白質合成を抑制し、反面、一般的なアミノ酸の生合成は抑制していないことを示している。しかし、アミノ酸のうちトリプトファンについては Zn 欠乏により生合成が抑制され、それを前駆体として生合成されるインドール酢酸のレベルもまた低下することが判明した。Salami ら<sup>49)</sup>は、トウモロコシの生育が Zn 欠乏により低下した場合に培地からトリプトファン

を供給し続けると生育は正常化することを観察している。それゆえ、Zn 欠乏により蛋白質レベルが低下し、遊離アミノ酸が集積することは蛋白質生合成に必要なアミノ酸の一つであるトリプトファンが欠除した結果ではなかろうか、と推察する。しかし、高木ら<sup>48)</sup>は、トウモロコシが Zn 欠乏してもトリプトファン生合成は抑制されず、むしろ促進され、抑制されるのはトリプトファンからトリプタミンが生成される段階であり、インドール酢酸はトリプタミンを経て生合成されるので、その結果、インドール酢酸が減少することを示した。

トリプトファン生合成におよぼす Zn 欠乏の影響については以上のように相反する結果が提示されており、今後解明しなければならない Zn 欠乏による蛋白質レベルの低下については上記のトリプトファンの問題とは別に蛋白質生合成の基本となる核酸作用における Zn の機能についてさらに考えることが必要であろう。

### 2. 家畜の Zn 欠乏症

家畜においては1955年、ブタの Zn 欠乏症により不全角化症の発現することが認められている<sup>50)</sup>。本症は皮膚に特殊な障害が発生し成長を阻害する。また、Ca の過剰摂取によって発現しやすい<sup>51)</sup>。

1958年、ニワトリヒナにおける Zn 欠乏症が認められ、その症状は、成長の低下、長骨の短縮、羽生の悪化および卵のふ化率以下などが発現し、強度の欠乏症では角化症をひき起こす。このような Zn 欠乏の一因としては Ca の過剰摂取が提唱されている<sup>1)</sup>。しかし、ウシやヒツジについては Zn 欠乏症に関する報告はみあたらない。

一般に、Zn の欠乏により体内のとくに骨、歯および血中の Zn 濃度は低下するが、Zn を多量に摂取すると体内に蓄積され、その後体内の含量は徐々に減少する。

体内の Zn は数種の酵素の活性に関与していることはすでに述べたが、家畜においてはとくに Zn はアルカリフォスファターゼの活性元素になっており、本酵素はケラチン化や石灰化において重要な作用をし、また、Ca と拮抗作用のあることが明らかになっている。

家畜における Zn の要求量は、ブタとニワトリヒナについて NRC 標準 (National Research Council 米国国家研究会議) に示している。すなわち、ブタの飼料中 Zn 量は 50mg/kg、ニワトリヒナのそれは 35mg/kg となっている。ただし、Ca を多く与える場合には Zn 量を増加する必要がある、としている。ブタでは安全のため Zn を補給することを奨励している。また、この要求量の数倍量の Zn を成ブタや幼ブタに与えても有毒ではないが、ラットでは過剰の Zn を与えると貧血を起こす



ことがある。これは **Zn** が **Cu** の機能を阻害したため、**Cu** の補給により回復することが判明している<sup>1)</sup>。

### 3. ヒトの **Zn** 欠乏症

ヒトにおける **Zn** 欠乏症は微量元素の欠乏症中で最も発現頻度が高く現在では重要視している。

**Zn** 欠乏症を重要視し始めたのは最近で、その理由は特定の症状を呈するほどの重症例が少なかったことと環境中の **Zn** 存在量が大で、その欠乏状態は特定の条件下でしか発見できなかったことである。

最初にヒトに **Zn** 欠乏症が存在することを主張したのは1961年で、**Zn** 欠乏者はイラン人（男、21歳）の患者である。

本患者の状態は、顕著な貧血、発育不全、性腺機能未発達、肝脾腫、皮膚粗荒、精神的鈍感、土食症がみられた<sup>52)</sup>。

本患者の治療に際してはまず、症状が家畜の **Zn** 欠乏症と類似していることから、血清中の **Zn** 濃度を測定した結果、正常値より低い値を示したので **Zn** 欠乏症と断定し、**Zn** を投与したため血清 **Zn** 濃度は正常濃度に達した。一方、貧血については **Zn** 欠乏と同時の **Fe** 欠乏によるものと考え、**Fe** の投与によって回復した。

本患者発見前の食餌は小麦粉でつくったパンのみで、動物性蛋白質は摂取していないし、また、1日に400～500gの土を食していた。このことは、食餌から摂取する **Zn** 量が極く少量であることと、キレートすることにより腸管からの **Zn** 吸収を抑制する繊維または土の摂取により極度の **Zn** 欠乏症となったと考えられている。

本患者にひきつづきエジプトにおいて同様の患者について詳細に調査をおこなった結果、血漿、赤血球、毛髪中の **Zn** 濃度は低く、<sup>65</sup>**Zn** を用いた血漿 **Zn** 交代の増加、<sup>65</sup>**Zn** の尿および糞中の低濃度を認めたので、その他の **Zn** 低濃度をきたす疾病の除外からヒトにも **Zn** 欠乏症が存在しうることが明らかになった<sup>53)</sup>。

これらの患者はいずれも食餌はパンを主としていて蛋白質はほとんど摂取していなかった。そこで、患者らに **Fe** のみを与えた群、動物性蛋白質と植物性蛋白質を充分与えた群（**Zn** は充足）、および無機 **Zn** 塩を経口投与した群の結果を比較すると、無機 **Zn** 塩を投与した群は7～24週間で身長、体重の増加や身体内外が正常に向う徴候がみられたが、他の2群ではこれらの徴候は示さなかった、と報告している<sup>53)</sup>。

さらに、トルコ、ポルトガル、モロッコから全世界に及び前記同様の症状をもつ **Zn** 欠乏症の患者が存在することが判明し、とくに穀物のみを食餌源とする人々に本症が多いことが明らかになった<sup>53)</sup>。

以上はヒトの **Zn** 欠乏症の発見段階であり、これを契機として次の段階は先進国で広く一般にみられる **Zn** 欠乏状態の調査によるものであり、**Zn** 代謝に関する研究が進んだことと、アメリカ合衆国を中心としたミネラルに対する関心の強化と必須金属の毛髪中の測定普及によることで、小児の毛髪の一斉分析により高い頻度で **Zn** 濃度の低い者の存在していることを認めた。これら小児の状態は食欲不振、味覚や嗅覚の減退が共通していることで、**Zn** 投与によりこれらの状態は回復することが明らかになり、潜在的あるいは環境的 **Zn** 欠乏症の存在が確認されたことである<sup>54)</sup>。

さらに研究が進み、かつては小児の致命的疾患としていた腸性肢端皮膚炎に対する **Zn** 投与による顕著な症状の回復から、1973年に本症が先天性の **Zn** 吸収障害が原因であることが判明し、このために大量の **Zn** を投与すれば吸収され、症状の回復を示すことが明らかになった<sup>55)</sup>。

ついで、1975年ころから人為的な **Zn** 欠乏症の存在が次第に明らかにされてきた。すなわち、外科治療においておこなう経静脈性高カロリー栄養療法で、上記の小児の腸性肢端皮膚炎と同様な所見が成人にもみられることや、Wilson 病のペニシラミン療法治療中の患者、未熟児、肝硬変をとまなうアルコール性中毒者にも同様な症状がみられ、これらの患者に **Zn** を投与すると回復することから後天性の **Zn** 欠乏症であることが明らかになった<sup>55)</sup>。

以上のように **Zn** 欠乏症は栄養性の **Zn** 欠乏症から各段階を経て人為的な後天性 **Zn** 欠乏症にいたるまで明らかになってきた。

現在では **Zn** 欠乏症をおこす原因としては前述の高カロリー栄養療法や先天性である腸性肢端皮膚炎などのほか、胃や腸の手術、食餌中多量のフィチン酸（**Zn** を吸着する）、カルシウムやリン酸の過剰摂取（腸管内で不溶性の化合物をつくり吸収量が減少）など、主として吸収減少によるものと、アルコール多量摂取、肝硬変、ネフローゼ、火傷など排泄量の増加がおこるために生じるものが知られている。両者とも血液中の **Zn** 濃度は低下するが、尿中 **Zn** 濃度は前者では低下、後者では上昇する。

**Zn** 欠乏による症状には前述のような成長や性腺の未発達、皮膚炎、食欲不振、味覚や嗅覚の減退、毛の脱落、皮膚傷の治癒が遅い、眠気、うつ状態などの精神症状が知られており、そのほか胎児への影響として奇形発生増加、流産増加、免疫機能の低下による感染症へのかかりやすさなども発現する、と考えられている<sup>56)57)</sup>。

Zn 欠乏症の中で次に述べる免疫不全および胎児への影響に関しては最近とくに注目している。

Zn 欠乏と免疫不全については、家畜においてホルスタイン・フリージア種のウシでは先天性の胸腺萎縮と胸腺依存性の免疫不全があり、この種のウシでは唯一の遺伝的欠損として腸管からの Zn 吸収不全のあることである。

実験的な Zn 欠乏状態では、リンパ組織、胸腺、脾臓、リンパ節、パイエル板に萎縮がみられ、とくに T 細胞系の組織の萎縮が著しく、細胞免疫の不全をとともなうことも明らかにされている。

ヒトにおいても Zn 欠乏患者の胸腺萎縮が Zn 投与により胸腺の大きさの増大がみられている。この場合の Zn 投与量は 2mg/kg/day で、投与 10 日間で胸腺の増大がみられたという。そのほか、ヘルパー T 細胞機能の低下、ナチュラルキラー細胞の活性低下、透析患者でのリンパ球の芽球化および白血球の走化能の低下などに対して Zn 投与により回復するなど多例の免疫能の低下が示されている。また、Zn 欠乏症の特徴の一つとして易感染性があり、免疫不全が一因であると考えられている<sup>58), 59)</sup>。

次に Zn 欠乏の胎児への影響については、Zn 欠乏が催奇形性を有することはかつてから動物実験によって証明されている。ヒトにおいても遺伝性の Zn 欠乏症である腸性肢端皮膚炎の 3 人の母親から生れた 7 人の子の調査した結果、次のようなことが判明した<sup>60)</sup>。

- (1) 7 人の子のうち、1 人は流産、2 人は無脳症の中樞神経性の奇形児であった。
- (2) 無脳症児を生んだ母親および臍帯血中の Zn 濃度は著しく低かった。
- (3) 子の流産および奇形と母親の血清中 Zn 濃度の低値に関連していた。
- (4) アルコール多量摂取の母親からの奇形と Zn 濃度の低値が関係した。
- (5) Zn は肝臓からのビタミン A 放出に関与するが、奇形児の肝臓中ビタミン A 濃度は高値を示した。

以上はヒトにおける Zn 欠乏が胎児に影響する一例をあげたが、発見例が少なく、また、人権問題も考えると我が国では今後このような研究は困難であろう。

## VI 食品中の Zn

食品中の微量元素測定値は処理法、分析法、機器、技術などによってかなりの差がみられる。

最近、熱中性子放射分析法による食品中の微量元素を

測定した報告によると、Zn 濃度について、穀類(コメ、コムギ)中には 10.61~18.95 $\mu\text{g/g}$ 、豆類(ダイズ、アズキ)中には乾燥試料として 35.0~47.0 $\mu\text{g/g}$ 、野菜類(ホウレンソウ、シュンギク、キャベツ、サラダナ、ナガネギ、タマネギ、ニラ、セロリ、ニンジン、ナス、サヤエンドウ、トマト)中には 1.5~7.7 $\mu\text{g/g}$  で、とくにホウレンソウとシュンギクは高値を示した。芋類(ジャガイモ、サトイモ)中には 4.02~7.01 $\mu\text{g/g}$  でサトイモの方が高値であり、キノコ類(生シイタケ、シメジ、マッシュルーム)中には 5.35~12.04 $\mu\text{g/g}$  でシメジが最高値をしめした。魚類(イワシ、サケ、マグロ、アジ)の筋肉中には 3.49~22.46 $\mu\text{g/g}$  でイワシが最高値を示し、畜肉類(牛、豚、鶏)の筋肉中には 6.10~51.58 $\mu\text{g/g}$  で牛肉が最高値を示した<sup>61)</sup>。

畜肉の各部位および副生物中の Zn 濃度は、牛では各部位の肉中には 43.9~76.3ppm で除脂身バラが最高値を示し、副生物中には 19.1~45.0ppm でテールが最高値を示した。

豚では各部位の肉中には 20.0~114.9ppm で除脂身かたロースが最高値を示し、副生物中には 39.3~94.7ppm で肝臓が最高値を示した。

鶏では各部位の肉中には 3.5~10.8ppm で除皮ももが最高値を示し、副生物中には 7.5~21.8ppm で肝臓が最高値を示した。

また、Fe と Zn の濃度の相関関係については、牛の各部位の肉および副生物では負の相関を示し、豚の各部位の肉および副生物では正の相関を示した<sup>62)</sup>。

次に乳中の Zn について述べる。

一般に、人乳は乳児にとって牛乳に比べるとより有効な微量元素供給源である。Zn についても牛乳より人乳のほうがより有効に吸収される。その理由は、牛乳中の Zn が主としてカゼインに結合しているのに対して人乳中の Zn は低分子の Zn 結合リガンドに多く結合して存在しているのではないかと考えられているからである。また、このリガンドが Zn 吸収に関与する、という仮説もある<sup>63)</sup>。

一方、トリプトファンの代謝により少量生じるピコリン酸は Zn の腸管での吸収に大きな役割を果している、とかつては考えられていたが、現在では否定する傾向にある。その理由は、ピコリン酸は人乳中には極く微量しか含まれておらず、Zn のリガンドとは考えられないことである。人乳中の Zn 結合はクエン酸ではないか、という考えもある<sup>64)</sup>。

食品中の Zn については、食品の材料となる家畜体や作物体中の Zn 欠乏あるいは過剰も考慮する必要がある

う。これは全必須元素にも言えることである。

### おわりに

以上、生体内の **Zn** に関する考察を述べたが、日本における国民の **Zn** 摂取量変遷は、1930年代に比べると1945年前後は著しく低水準となり、その後1950年代半ばまでに急速に回復し、1970年代以降はほぼその水準を保っている。また、**Zn** 摂取量の逐年変化パターンは蛋白質摂取量の逐年変化パターンと類似性が高い、という調査結果がある<sup>65)</sup>。

生体内の **Zn** に関してはまだ不明なことが多々あるが着々研究されている。極く最近の研究では、**Se** 欠乏ラットの各種組織中の **Mg** および **Zn** 量について<sup>66)</sup>、また、食餌蛋白質量ならびにアルカリ処理ダイズ蛋白質投与が **Zn** 欠乏ラットの組織 **Zn** 含量および血清アルカリフォスファターゼ活性に及ぼす影響について<sup>67), 68)</sup>、などがある。

今後も各学界でさらに研究が進まれることを期待する。

本稿を終るにあたり、ご助力をいただいた、東京農業大学図書館ならびに明治薬科大学図書館に謝意を表します。

### 文 献

- 1) Maynard, L. A. and Loosli, J. K. : Animal Nutrition, 5th. ed. 171, McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, Toronto, London (1962)
- 2) Stanstead, A. S. et al : Am. J. Clin. Nutr., 20, 422 (1967)
- 3) O'Dell, B. L. et al : J. Nutr., 65, 503 (1958)
- 4) Kay, R. G. et al : Ann. Surg., 183, 331 (1976)
- 5) 木村美恵子ら : 微量栄養素研究, 1, 71 (1984)
- 6) 木村美恵子ら : マグネシウム, 3, 1 (1984)
- 7) 安本教傳ら : 栄養と食糧, 29, 511 (1976)
- 8) 鈴木継美ら : 日本栄養食糧学会誌, 41, 91 (1988)
- 9) Cousins, R. J. : Nutr. Reviews, 37, 97 (1979)
- 10) Suso, F. A. and Edwards, H. H., Jun. : Nature, 236, 230 (1972)
- 11) Prasad, A. S. : Essential Elements, in "Trace Elements and Iron in Human Metabolism" P. 251, Plenum Pub. Co. New York (1978)
- 12) Schricker, B. R. and Forbes, R. M. : Nutr. Rep. Int., 18, 159 (1978)
- 13) Eckert, C. D. et al : Science, 195, 789 (1977)
- 14) Song, M. K. and Adham, N. F. : Am. J. Physiol., 234, E99 (1978)
- 15) Sandstrom, B. et al : Am. J. Clin. Nutr., 33, 739 (1980)
- 16) O'Dell, B. L. : Nutr. Rev., 42, 304 (1984)
- 17) Oberless, D. and Moody, N. : "Trace Element Metabolism in Man and Animals", ed. by J. Mchowell, J. M. Gawthorne and C. L. White, Australian Acad. Sci., P. 129 (1981)
- 18) Mchenzie, J. M. and Davis, N. T. : "Trace Element Metabolism in Man and Animals", ed. by J. Mchowell, J. M. Gawthorne and C. L. White, Australian Acad. Sci., P. 111 (1981)
- 19) Prasad, A. S. : Fed. Proc., 432, 2829 (1984)
- 20) Campbell, J. K. and Mills, C. F. : Proc. Nutr. Soc., 33, 15A (1974)
- 21) Mills, C. F. : Annu. Rev. Nutr., 15, 173 (1985)
- 22) 池田小夜子 : 栄養と食糧, 33, 6, 385~391 (1980)
- 23) 浜口 博 : 基礎無機化学, 東京化学同人, 221 (1968)
- 24) 石橋雅義ら : 周期表と分析化学, 丸善, 435~437 (1975)
- 25) Vallee, B. L. et al : J. Biol. Chem., 235, 64 (1960)
- 26) Smith, E. L. et al : in A Symposium on the Mechanism of Enzyme Action, ed. W. D. McElroy and B. Glass Baltimore, Johns Hopkins Press. 291 (1954)
- 27) Smith, E. L. and Lumry, R. : Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology, 4, 168 (1949)
- 28) Coleman, J. E. and Vallee, B. L. : J. Biol. Chem., 236, 2244 (1961)
- 29) Lindskog, S. et al : "The Enzymes", ed. P. D. Boyer, 3rd ed., 587, Academic Press, New York (1975)
- 30) Kannen, K. K. et al : Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 51 (1975)
- 31) Kannen, K. K. et al : FEBS Letters, 73, 115 (1977)
- 32) Bröndén, C. I. et al : "The Enzymes", ed. P. D. Boyer, 3rd ed., 11, 104, Academic Press, New York (1975)
- 33) Dworschack, R. T. and Plapp, B. V. : Biochemistry, 16, 2716 (1977)
- 34) Creighton, D. J. et al : J. Am. Chem. Soc., 98, 4619 (1976)
- 35) 太田次郎ら : 生体無機化学, オーム社, 79~94 (1996)
- 36) Hoch, F. L. and Vallee, B. L. : J. Biol. Chem.,

- 195, 531(1952)
- 37) Vallee, B. L. et al : Ann. Intern. Med., 50, 1077 (1959)
- 38) 三浦義彰 : ハーバー・生化学, 417~418(1973)
- 39) Margoshes, M. and Vallee, B. L. : J. Amer. Chem. Soc., 79, 4813~4814(1957)
- 40) Olafson, R. W. and Thompson, J. A. J. : Marine Biol., 28, 83~86(1974)
- 41) Noël, F.-Lambot : Experimenta, 32, 324~326 (1976)
- 42) Noël, F.-Lambot : Rev. Int. Océanog. Med. Tome XLIX, 13~20(1978)
- 43) 山本義和ら : 日本水産学会誌, 44, 149~153(1978)
- 44) Brown, D. A. and Rarsons, T. R. : J. Fish. Res. Board Can., 35, 880~884(1978)
- 45) 武田 博, 清水千秋 : 昭和54年度, 日本水産学会春季大会講演要旨集, P.185(1979)
- 46) 木村正巳 : 環境汚染物質と毒性, 無機物質編, 化学の領域増刊, 126号, 南江堂, 59~69(1980)
- 47) Wada, O. et al : J. Toxicol. Environ. Health., 9(5), 509(1982)
- 48) 高木 浩, 串崎光男 : 土壤肥料学会誌, 43, 81(1972)
- 49) Salami, A. U. and Kenetick, D.G. : Grop. Sci., 10, 291(1970)
- 50) Tucker, H. F. and Salmon, W. D. : Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 88, 613(1955)
- 51) Hoefer, J.A. et al : J. Animal Sci., 19, 249(1960)
- 52) Prasad, A.S. et al : Am. J. Med., 31(5), 532(1961)
- 53) Sandstead, H.H. et al : Am. J. Clin. Nutr., 20(4), 422(1967)
- 54) Hambidge, K. M. et al : Pediatr. Res., 6(8), 868 (1927)
- 55) Barnes, P.M. and Moynahn, E.J. : Pro. Soc. Med. 66(2), 327(1973)
- 56) 和田 攻 : 新内科学大系, 84-A, 中山書店, 278 (1984)
- 57) Golden, M.H.N. : Clin. Nutr., 36C, 185(1982)
- 58) Good, R.A. et al : Fed. Pro., 39, 3098(1980)
- 59) Good, R. A. et al : "Clinical, Biochemical and Nutritional Aspects of Trace Elements" ed. by Prasad, A.S., Alan, R. New York, 189(1982)
- 60) Jameson, S. : "Trace Element Metabolism in Man and Animals", Springer Verlag, Berlin, 243(1982)
- 61) 稲荷田ら : 栄養と食糧, 33, 6, 417~420(1980)
- 62) 稲荷田ら : 日本栄養・食糧学会誌, 40, 4, 328~332 (1987)
- 63) Loennerdal, B. et al : Ann. Rev. Nutr., 1, 149(1981)
- 64) 古山淳三ら : 牛乳・乳製品の栄養, 雪印乳業技術研究会編, 216(1986)
- 65) 小林香苗, 鈴木継美 : 日本栄養・食糧学会誌, 40, 3, 233~235(1987)
- 66) 安本教傳ら : 1990年3月, 日本農芸化学会大会講演集, 330(1990)
- 67) 則井孝文, 鈴木博雄 : 日本栄養・食糧学会誌, 43, 4, 247~253(1990)
- 68) 則井孝文, 鈴木博雄 : 日本栄養・食糧学会誌, 43, 4, 255~261(1990)