

ブドウ糖の加熱によって生じる高分子化合物のがん促進予防

高橋延昭^{1,2}、鷺見紋子¹、高塚伸太郎¹、大友詔雄²

¹ 医療人育成センター, 教養教育研究部門, 物理学

² 株式会社 NERC 自然エネルギー研究センター

The prevention of cancer promotion by highly polymerized compound caused by heating the glucose

Nobuaki Takahashi^{1,2}, Ayako Sumi¹, Shintaro Takatsuka¹, Norio Ohotomo²

¹ Physics, Department of Liberal Arts and Sciences, Center for Medical Education, Sapporo Medical University

² Natural Energy Research Center, Co., Ltd.

我々はブドウ糖を高熱処理するとがん促進予防機能を有することを *H-ras* がん遺伝子による悪性形質転換株細胞 W14 を用いた動物実験で見出した。高熱処理ブドウ糖は細胞培養下では W14 細胞の細胞分裂を阻止あるいは殺傷しないことから、経口投与後の予防効果は、消化器系によるまだ未解明の事象による間接的な作用と思われた。加えて、その予防機能を有する物質は 1 万前後の分子量を有する高分子化合物であった。

Here we report that when glucose has been heated, it acquires a cancer promotion-preventing function. Specifically, the growth of solid cancer in the fibroblast malignant strain W14 that has been transformed by the *H-Ras* oncogene is suppressed by the water drinking assay of heated glucose. Since the glucose does not directly depress the proliferation of cultured W14, the cancer promotion-preventing action shows the potential of intestinal indirect effects. In addition, we report that the active size of heated glucose is approximately 10,000 molecules.

キーワード：ブドウ糖、カラメル、がん促進予防、料理

1. はじめに：本研究の背景

最初に、Fig.1 は本研究の基本となるデータである。ブドウ糖を 200 μ g/ml で蒸留水に溶解し、加熱しないもの (対照) と 180°C、30 分加熱し水分蒸発後 200 μ g/ml に調整したものを、それぞれ 20 μ l 使用し高速液体クロマトグラフィー (HPLC; High Performance Liquid Chromatography) の検出波長 254nm で逆相クロマトグラフィー法により展開した。

254nm の波長はほとんどのベンゼン環を有する有機物を検出するとされるので本実験も採用した。図中の直線の傾斜はメタノール濃度 (上端に達すると 100% となる) を示している。加熱すると、254nm の光を吸収し鋭利なピークとして検出される物質が、新たに出てくる。本研究はこれら新規物質の中に、がん促

進防止物質の存在を明らかにしたものである。Fig.1 上図は加熱前のブドウ糖 $C_6H_{12}O_6$ の溶出パターン。通常のブドウ糖は分子内に二重結合がないので 254nm に光の吸収域を持たないが、下図は加熱後ブドウ糖の溶出パターンで、図のピークの存在は分子構造内に主としてベンゼン環を有するか、または二重結合を有する有機物あるいはフラン化合物も生成されたため 254nm の光に吸収される物質の存在を示している¹⁾。さらに、ブドウ糖の加熱研究は新規機能 (がん促進予防) の出現が示唆された。

2. 高熱により生じる焦げと社会的通念

焦げに関し、がんと関係付ける研究が多い。従来、アミノ酸、タンパク質、魚、肉などの焦げから一連の新しいヘテロサイクリックアミンに属する変異原性物

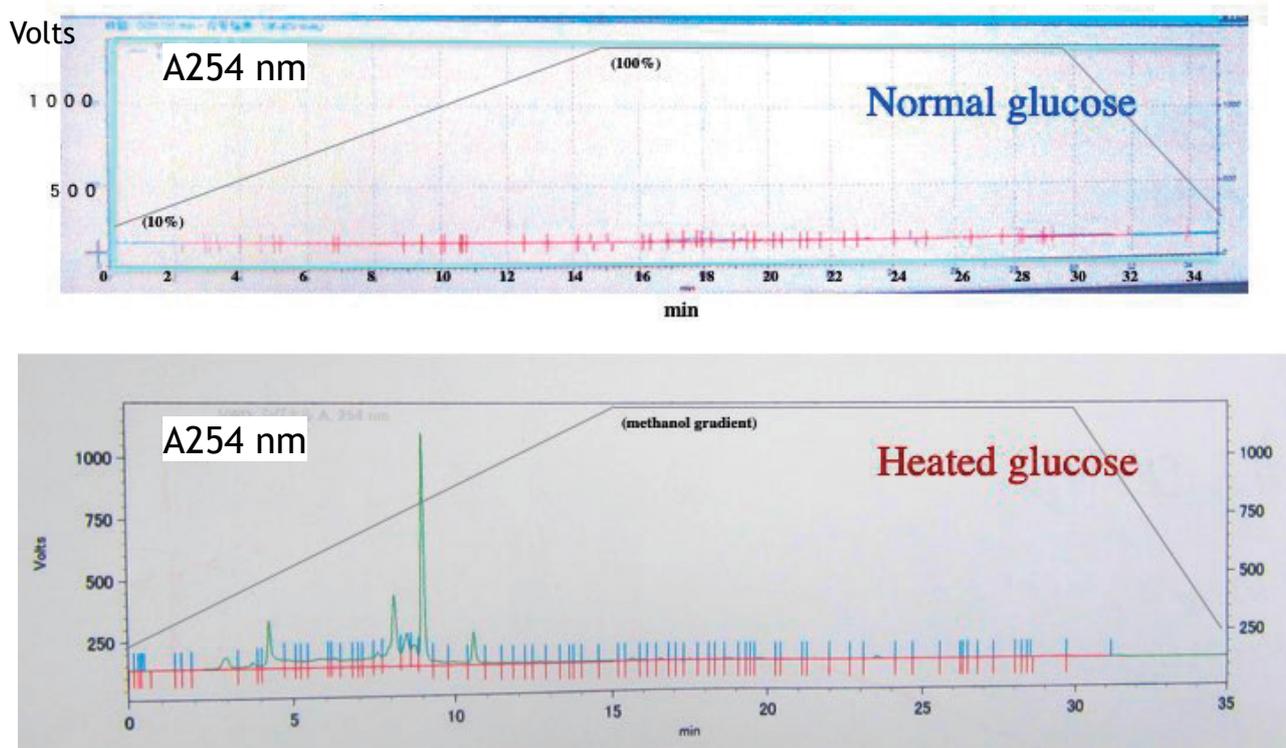


Fig.1 室温ブドウ糖および高温処理ブドウ糖液のHPLC溶出パターンの比較。縦軸；HPLC検出器の信号強度、この図では紫外吸光度は254 nm。横軸；時間，min。上図は室温ブドウ糖、下図は高温処理ブドウ糖（180℃、30分処理）でのメタノールを用いた逆相HPLCのそれぞれの溶出パターン。

質（細胞の集団または生物体に突然変異を発生する頻度を増大させる物質）が見つかり、やがてそれらは発がん物質として証明されるに至っていた²⁾。また、その一連の研究をした元国立がんセンター総長の杉村隆博士（故人）はコーヒーの煎った豆およびインスタントコーヒー両者に変異原性があり、それはメチルグリオキサールで糖質の焦げたものと示唆した。この杉村博士の一連の研究から、焦げによる発がんへの寄与という考えが広く受け入れられた。一方で、博士は全ての環境物質の中には変異原性、即、発がん性を示す物質は多いものの例外もあると指摘していた。2015年、同じ国立がんセンターのがん予防・検診研究センターに属する予防研究グループはコーヒー摂取量とがん、心疾患、脳血管疾患、呼吸器疾患の日本人における死亡率に対する疫学研究を公表した³⁾。その結果、煎っているコーヒー（一般的に200℃で焙煎）を1日3～4杯飲む人では、男女あわせた結果で心疾患、脳血管疾患、呼吸器疾患では4割ほど死亡率が低下した。一方で、がん死亡率の有意な低下は認められなかったが、焙煎コーヒーに変異原性が示唆されていたにもかかわらず、がん死亡率の増加も無かった。加えて、同グループは、部位別で見た先行研究結果はコーヒー摂取により肝がん、膵がん、女性の大腸がんと子宮体がんのリスクが

低下することを示唆していた。このことから、コーヒーとがん死亡率の有意な差なしの今回のデータは、男女区別なく且つ各部位の死亡率を総計した結果と同グループは考えている。このようにコーヒーに限ってではあるが、焦げおよびそれに伴う高熱領域の現象は、幅広く検討する余地の有ることをこの研究は示してくれた。

3. 本研究のカaramelおよび焙煎の機能的類似性の検討

本実験を始める前に、我々が使用しているカaramelという言葉の説明するために行った実験を示す。それはコーヒーなどに行う乾煎り焙煎と水飴状のカaramelはがん促進予防研究に際して、同一現象として捉えて良いかをブドウ糖を用いて検証したものである。まず、温度一定、異なった加熱処理時間の実験を行なった。ブドウ糖を1g秤量し、一定温度180℃で水のない場合（焙煎）と水のある場合（10ml）で、両者とも各種処理時間（30min, 1, 2 hr）でそれぞれ実験を行なった（本実験は水で溶解したものは加熱蒸発してもカaramelとした）。さらに、水の量を一定（10ml）の上、異なった温度条件（160, 180, 200℃）の実験も両者で行った。高温処理時、水が蒸発している場合にはピーカーに10

ブドウ糖の加熱によって生じる高分子化合物のがん促進予防

mlの水を入れ、HPLCなどの分析に供した。その結果、実験に供した高温処理(160~200℃)によって出現する物質は一般的に茶褐色を呈した物質で、その温度以下では淡黄色、それ以上、すなわち200℃以上では黒色炭化物質の出現と茶褐色の物質を確認した。HPLC分析では溶出時間がほぼ一致し、紫外吸収ピークの高さも面積も大小の差があるが類似した山形の様相を示す画分のあることが知れた。ここで詳細は掲載しないが、その画分のがん促進予防効果があった。従って、今後、特に焙煎、カラメルと断りなくともブドウ糖の高温処理で生じる茶褐色物質をがん促進予防機能の領域として本研究は扱う。

4. 細胞 (in vitro) 実験の方法

4.1 本研究のがん細胞

本研究はW14というがん幹細胞様細胞を扱った。その理由は以下の如くである。がんは遺伝子変異(或いはキズ)の病気と言われている。最近、がんはがん幹細胞から生じる場合が多いことも知られるようになってきた⁷⁾。皮膚を例にとるとヒトの上皮細胞は60日、2ヶ月の寿命である。しかし、がん化するには18ヶ月以上必要とされる。このことは数日、あるいは数ヶ月で死滅する正常上皮細胞ががんになる前に死滅・脱落することが考えられ、通常に分化した正常上皮細胞が

がんになることは時間的に考えにくい。そこで個体の生涯に亘って生存し、自己複製能を有し、臓器への分化を担う幹細胞に変異が生じた場合、幹細胞ゆえに変異を蓄積しながらも自己複製し、長期間存在可能なので、それががんになるとするなら理解し易い。従って、がんは幹細胞の変異から生じる可能性が高いと考えられるようになってきた。

一般的に、普通に存在するがん細胞とがん幹細胞とを見分ける方法はマーカーと呼ばれる表面蛋白質を検査する。膵臓がん幹細胞と乳がん幹細胞はCD44、大腸、前立腺、脳腫瘍がん幹細胞はCD133と呼ばれる表面蛋白質を過剰発現している⁷⁾ので、それを手がかりにする⁷⁾。

本研究に用いた細胞は、本学前札幌医大病理学講座佐藤昇志教授が樹立したラット胎児正常繊維芽細胞WFBにヒト膀胱がん由来がん遺伝子H-rasを移入して作成した悪性形質転換株W14である⁸⁾(Fig. 2)。この形質転換株W14の細胞表面にはがん幹細胞に特有な表面マーカー、CD44が発現している⁹⁾。故に、本研究はがん幹細胞様細胞を対象としたがん促進予防研究であることを示している。

4.2 培養細胞の生存率測定

この実験には96穴(ウエル; well)培養プレートを用い、個々のwellには3,000個のW14を撒き、

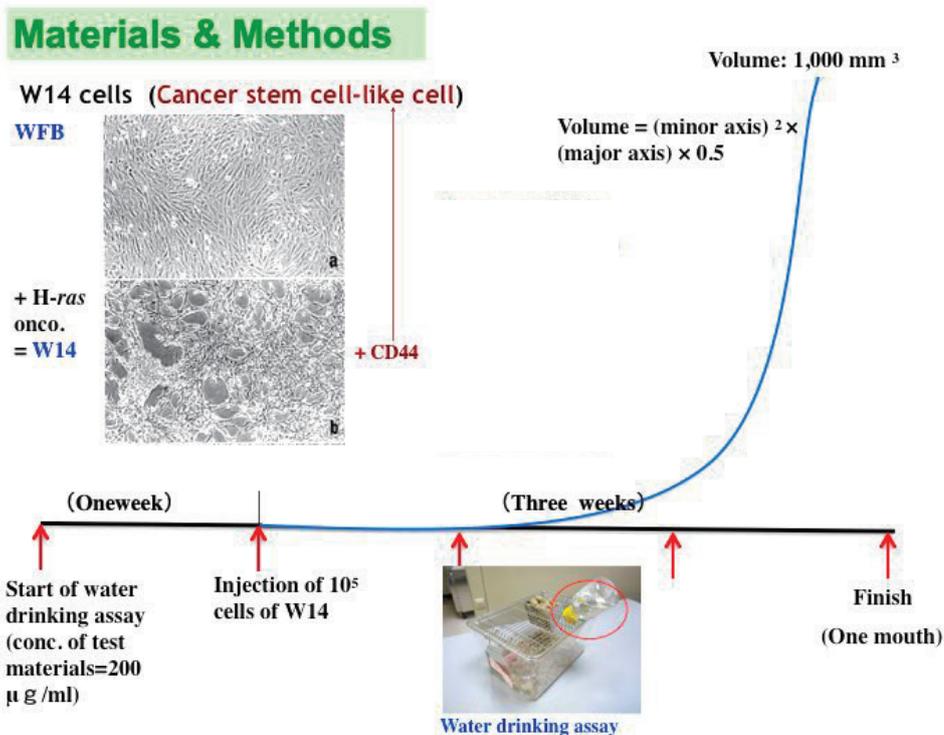


Fig. 2 材料及び方法. 実験の概要図および使用したW14悪性形質転換株細胞位相差像を示した. 実験の方法は本文参照のこと.

それにカラメルの各種濃度を添加し測定した。48時間後、培養を停止し、wellごとの細胞数を知るためMTT (テトラゾリウム塩の一種の黄色色素; 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-dihenyltetrazolium bromide) をホルムアザン色素 (紫色) へ還元する酵素活性を測定する比色定量法で行われた。この方法により培養細胞の生存率や増殖率を試験することが可能で、対照 (100%) 比をプレートリーダーで波長 570 nm の吸光度で比色定量した。

5. 動物 (*in vivo*) 実験の方法

本がん予防研究は物質探索のスクリーニングに際し、後述するが、直接動物投与実験を行なった。加えて、我々は飼育箱に1頭のマウスのみ飼育で実験を行なっている。その理由は一つの飼育箱で、1頭飼育でも排尿、排便のヶ所と就寝など日常の各生活域を明瞭に区別してマウスは生活している。そこに別なマウスが入るとその生活が落ち着くまで混乱する。それで本研究は個々飼育とし、そのため、対照群、2飼育箱 (2頭)、実験群 2飼育箱 (2頭) とし、少数単位で実験を行った。この様に対照群、実験群などでは2頭の平均腫瘍体積で比較し、対照比抑制率が高い値が出た場合、確実に再現性がある場合のみ結果を公表した。

使用動物は5週齢のヌードマウス (BALB/cAJclnu/nu, ♀) で、実験スケジュールは先ず試験液に条件付けするため入荷当日に体重測定 (5週齢は 16~18 g/個体) 後、経口投与 (飲水実験) を開始した (Fig. 2)。試験液は水に溶解し、自由飲水の方法で行った。ヌードマウスは毛のあるマウスより飲水量が多く、1日当たり 7~10 ml であった。物質の投与量を概算するときには簡略化し 10 ml/day/mouse で統一して計算した。その

1週間後に W14 形質転換株細胞 10^5 個/mouse が注射法にて皮下に移植された。ヌードマウスは7週齢でほぼ 20 g に達する。この体重増加の測定も重要で、試験液の影響により通常の体重の成長曲線に乗らなければ試験液の濃度などをチェックし、体重に影響のない条件で検討することを心がけた。すなわち、がん体積が減少しても体重も減少した場合、その実験を中止し、体重減少が出ない条件を精査し、再度実験を行うことに心がけた。がん体積の計測は、体積 Volume (mm^3) = (短径)² × (長径) ÷ 2 である。実験終了後、がんの摘出にはイソフルランを用いた吸入麻酔後に行われた。本がん促進予防研究は、がんの発達段階をイニシエーション期、プロモーション期、プログレッション期とするなら、本研究は *ras* がん遺伝子単独でがんへと成長する悪性形質転換株を使用しているため、発がんの初期遺伝子変異を経るイニシエーション期が終了し、以降促進発達するプロモーション期に移行できるか否を決める遷移期でのがん促進予防研究と言える。通常のがん細胞株移植実験は複数の遺伝子変異した細胞株を用いている場合と比較し、本研究は、一つのがん遺伝子を対象としたがん促進予防実験なので、イニシエーションからプロモーション期への移行をより解析しやすいものと判断している。移植後4週間目に入ると W14 によるがんの体積は 1 cm^3 以上 (Fig. 2, グラフ・固形がん成長曲線) と成るので、主として4週間目前後の対照と実験群の体積比較を行なっている。

6. *In vitro* 実験の結果

市販の藤井薬品株式会社のカラメル (ブドウ糖) を購入し実験を開始した。次いで、自作した (180 °C, 2 hr 処理) カラメルでも実験を行った。しかし、Fig. 3 に示

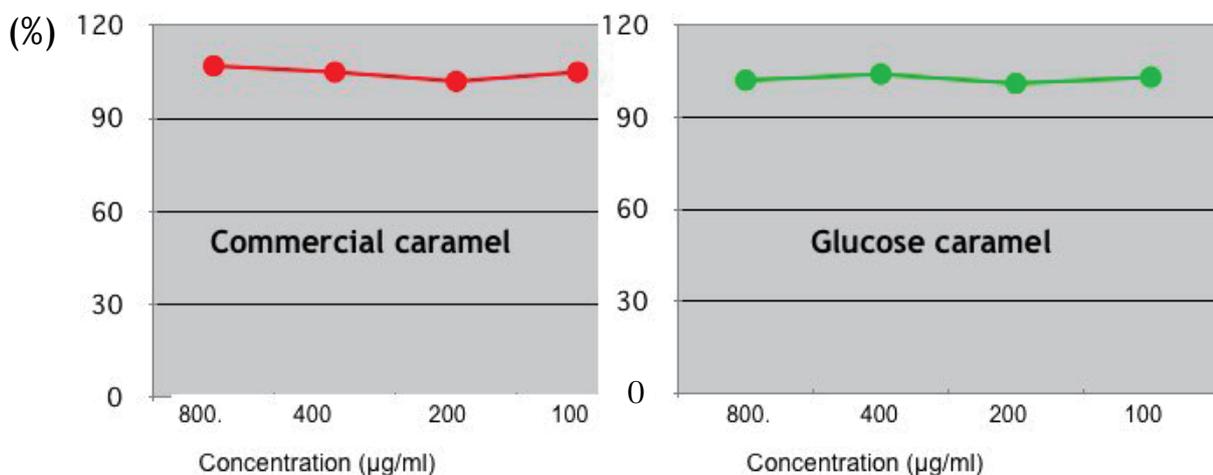


Fig. 3 市販カラメルとブドウ糖カラメルの各種濃度での生残数の比較。縦軸、コントロールの W14 細胞数を 100% とした時の 2 種カラメルのそれぞれの濃度での生残数 (細胞数)。

ブドウ糖の加熱によって生じる高分子化合物のがん促進予防

したごとく実験に使用した濃度 100 ~ 800 μ g/ml の範囲では両者いずれも W14 がん細胞の細胞分裂を抑制しなかった。

7. *In vivo* 実験の結果

筆頭筆者は以前、コンブ由来酸性多糖類のフコイダン研究を行っていた。そのフコイダン実験の *in vitro* 実験で、W14 株の細胞分裂を 50% 抑制する濃度が 100 μ g/ml と知れたが、動物実験では 2 倍濃度の 200 μ g/ml を使用した。それはマウスの体重増加には影響せず、がん体積の発達抑制を明瞭に観察できるのでこの濃度を経口投与実験に採用していた。

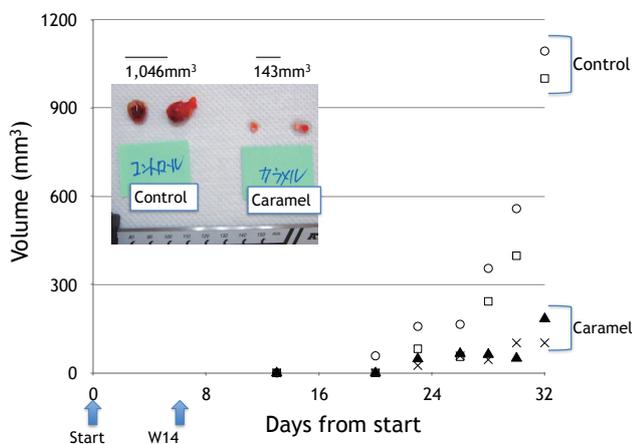


Fig. 4 ブドウ糖カラメル飲水実験による固形がん促進抑制. 縦軸, W14 細胞株腫瘍のがんの体積. 横軸, 実験開始からの日数. 試験液投与 (飲水実験) 開始後, 1 週間目に W14 細胞株 10^5 cells/mouse をヌードマウスの皮下に移植. 詳細は本文参照のこと.

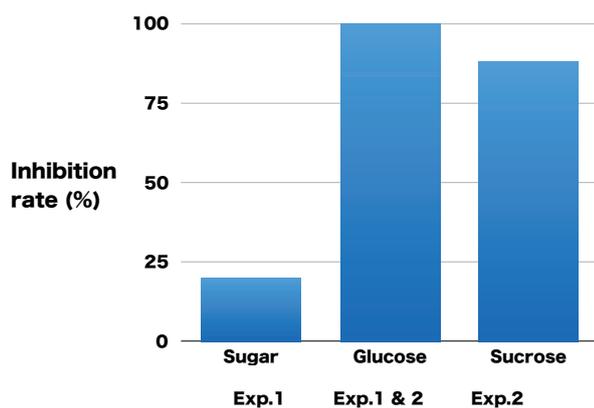


Fig. 5 ブドウ糖、砂糖、スクロースカラメル飲水実験でのがん促進抑制率の比較. ブドウ糖カラメル飲水実験でのコントロールの W14 腫瘍体積を 100% とした時のブドウ糖カラメル、砂糖カラメルおよびスクロースカラメルでの腫瘍体積との比較 (抑制率, 縦軸).

一方、本実験のカラメルでは細胞増殖阻害効果が認められなかったが、動物実験の濃度の選択に際してはフコイダン研究を参考に濃度 200 μ g/ml で行なった。

細胞実験で、細胞分裂を阻害しない物質が、動物実験で固形がんの成長を阻止するかを市販のカラメルでまず先行実験を行なった。そして、結果は経口投与でがんの成長を明瞭に阻止した。その詳細を Fig. 4 に示した。ほぼ 4 週目、対称群の固形癌の平均体積は 1,046mm³ でカラメル群の体積は 143 mm³ であった。対照群に対しカラメル群の W14 固形がん成長に対する抑制率は 87% を示した。そこで筆者は再現実験も兼ねて、それぞれ自作の砂糖由来カラメルと医薬品ブドウ糖由来カラメルのがん促進抑制効果 (実験 1; Exp. 1) を比較した (Fig. 5)。Fig. 5 に示したごとく、そのがん成長の抑制率は市販グラニュー糖カラメルでは 20%、ブドウ糖カラメルでは十分に再現性を示し 100% と高い数値を示した。そこで、砂糖成分と同じ医薬品として市販されているスクロースでさらに検討 (実験 2; Exp. 2) したところ、抑制率 88% (ブドウ糖カラメルとの差はない) と高い値であった。

市販のグラニュー糖には融点の違いのあることが指摘され、分子構造が多少異なっているとの報告 (スクロース分子での OH 基の配向あるいは水素結合のねじれなどの微細構造の違いが、結晶の融点に大きく影響を及ぼしている) があるので、今後の検討課題としたい。

一方で、筆頭筆者が研究していた酸性多糖類フコイダンの構成糖成分はブドウ糖とフコースであるが、加熱処理フコースはそれほどの高抑制率を示さなかった。そこで筆者は、ブドウ糖を中心に研究した。

8. 活性分子の大きさ

次いで筆者らはカラメル活性分子の分子量を知るため精製を行なった。分子の大きさを Sephadex G-25 (Sigma) (適応分離分子量サイズ 1,000 ~ 5,000) 用いて、ゲルろ過法 (分子ふるい法) での概算を試みた。Fig. 6 の左側写真は分離画分の様相を示し、矢印は高分子茶褐色領域を示している。抑制率の測定に際しては、2 画分 (総量約 10 ml) をマウス飲水ボトルに 10 倍希釈し与え、実験期間中に空になったボトルは水道水を補った。4 週後、摘出した固形がんの体積を全て比較して行われた (Fig. 6)。ところが、Sephadex G-25 (Sigma) の最大分子量限界の 5,000 付近、すなわち適応限界、画分番号 No. 6, No. 7 辺りの茶褐色領域で最大抑制率を示すことが知れた。一方、より低分子の黄色画分 (矢印より上の領域、遅く溶出する画分域) (No.13,

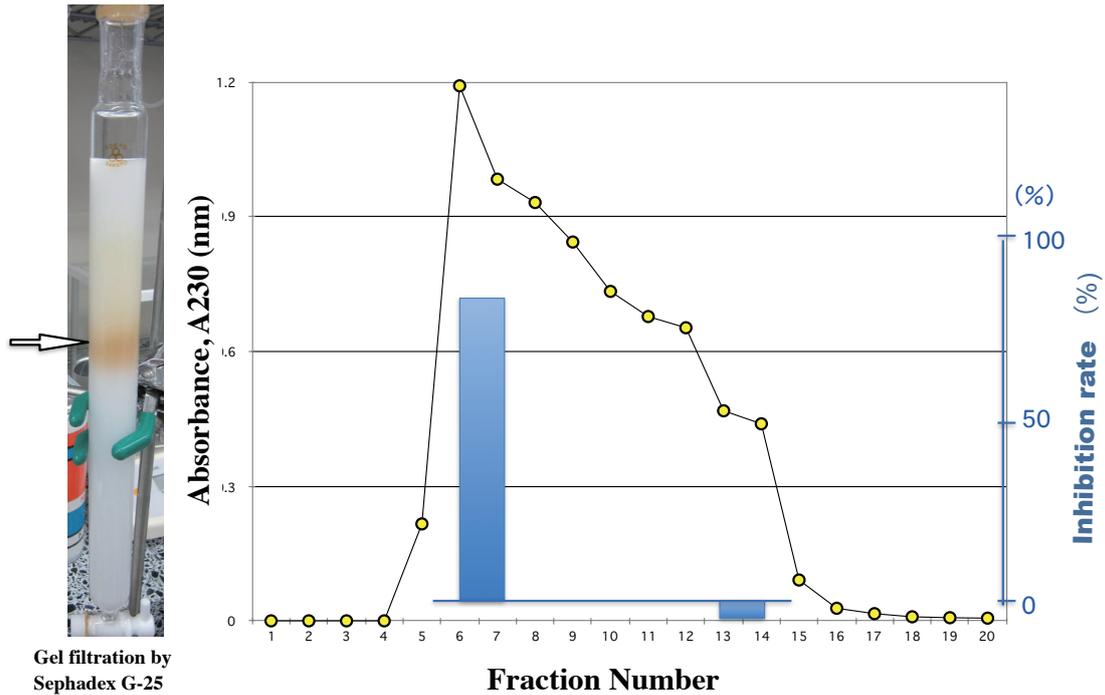


Fig. 6 ゲル濾過法によるブドウ糖カラメル活性分子量の測定実験 -1. 左図；Sephadex-G25でのブドウ糖カラメルのゲルろ過の様子．矢印の部分が褐色物質の活性部分．右図は褐色物質が画分 No.6 と 7に入ったのでそれぞれ合わせて約 10 ml で飲水実験．左の縦軸は紫外吸光度 230 nm (有機物検出の最低波長) の場合で丸印は検出強度のゲル濾過溶出パターンを示す，右の縦軸はコントロールの腫瘍体積に対するの抑制率 (%) を表す．

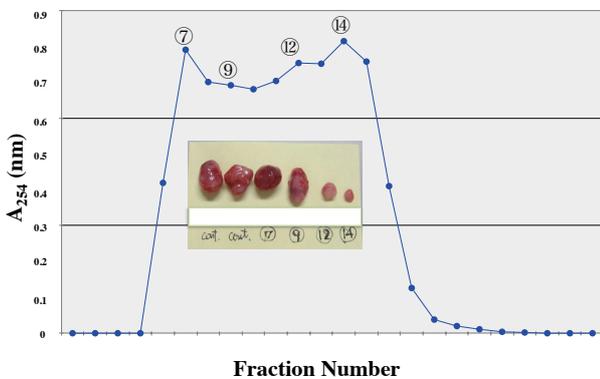


Fig. 7 ゲル濾過法によるブドウ糖カラメル活性分子量の測定実験 -2. 丸印は Sephadex-G50 を用いた紫外吸光度 254 nm による検出強度のブドウ糖カラメル溶出パターンを示す．丸印画分 5 ml をそれぞれ飲水実験に使用．中図は摘出固形がんの様子．

14) では抑制活性は全く見られなかった．次いで、粒子サイズの大きい Sephadex G-50 (適応分離分子量サイズ 1,500 ~ 30,000) を用いて活性画分が適応範囲画分に検出できるかを 1 画分 (約 5ml) づつ飲水量を 10 倍希釈し検討した．活性分子の本体は分離適用範囲内の試験した No. 12 および 14 画分は茶褐色を呈しがん体積の抑制活性のあることも知れた (Fig. 7, 中図)．それ

以降の画分は黄色を呈したので、そこには抑制活性が無いと G-25 の実験から判断した．そこで、縦軸に分子量、横軸に画分番号で図示、最大画分番号 No. 6 (分離適用最大分子量)、最小画分番号 No.17 (分離適用最小分子量) とし、それを結んだ直線上に活性画分番号 (No.12, No.14) をプロットすると活性分子は分子量 8,000 付近から 14,000 付近ほどの幅広い分子であることが示唆された (Fig. 8)．

9. 結語

9-1 研究の今後

筆者は、従来、抗がん剤探索研究ではがん細胞の細胞分裂を直接抑える物質を天然物から抽出、精製・選別し、次いでその活性物質を用いてマウスを用いた動物実験を施すことにより抗がん剤開発に至る臨床前実験を行ってきた．本研究は、がん予防に於けるがん促進予防研究分野であるが、2つの点を指摘したい．その最初として、*in vitro* 試験でがん細胞の細胞分裂を直接抑えない物質でも、経口投与により体内のがんの成長を抑える場合 (物質) のあることを示した (Fig. 3, 4)．この様に天然物の加熱処理のみでも新たに出てくる生合成物質の中に未知なるがん予防および抗がん物質が、少なからず存在している可能性があることが示

ブドウ糖の加熱によって生じる高分子化合物のがん促進予防

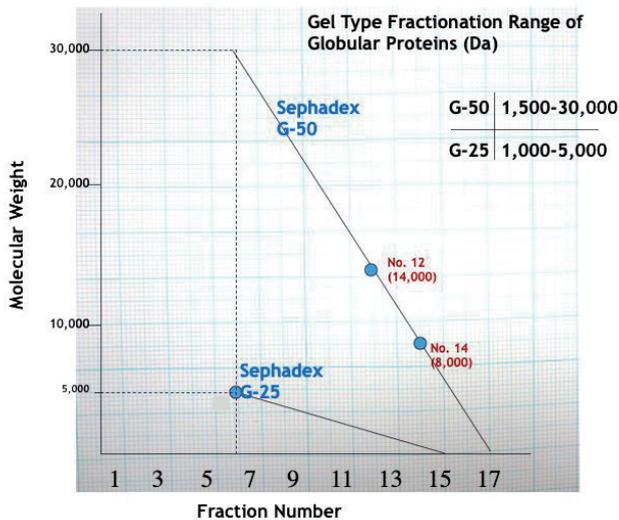


Fig. 8 本研究での活性分子量推定方法. 図は縦軸を分子量, 横軸を画分番号. カラムは Fig. 6 の内径 1.8 cm, 長さ 30 cm のカラムを使用. 画分容量はほぼ 5 ml とした. G-25 では分子量 5,000 を超えることが予測されたため, 分離適用分子量 1,500~30,000 の G-50 を使用した. その結果, 最大分画可能分子量を縦軸にプロット, 吸光度が消失する画分を横軸にプロット後, 両者を直線で結び, その上に活性画分をプロットし分子量を推定した.

唆された。このことが、本研究の意義の一つであると思われる。

ブドウ糖カラメルの上述した新規生物活性機構として3つの可能性を考えている。本研究により、このカラメルの活性本体は分子量1万前後の高分子で、分子量に幅のあることも示された。この様な高分子のものが体内の固形がん成長を抑えるには、1) 高分子が腸内で消化・分解され、低分子となって体内に入る場合、2) 食された高分子物質が腸のM細胞(パリエル板などの腸管免疫組織を覆う上皮領域に存在する特殊な腸管上皮細胞)などに認知され、免疫系を体内で活性化した結果、がん成長を抑える場合、3) カラメルなどにより新たな腸内細菌を増やし、その細菌ががんの成長を抑える物質を体内に放出する場合などが考えられる。今後、これらの可能性の有無を検討したい。

9-2. ヒトの火の使用(すなわち料理)による健康への寄与

2番目の重要なことは、料理は、食品にがん予防の機能を新たに付加する場合もあることである。焦げた表面とは異なり、より深部の180℃域の部位では、がん促進予防物質が生成され(ブドウ糖は普遍的に存在しているが、食品それぞれの量的なことは分からぬので、低分子でとどまっているか高分子を形成しているかは

不明で今後の課題)、その焦げを含む高熱領域付近では発がん物質、がん予防物質が混在し、さらにそれらの代謝物および他の物質とともに混沌とした世界であることが想像される。翻って、新鮮な野菜などの天然物の健康への寄与は取って言うまでもないが、それに加え、ヒトの手による料理という手技も健康に大きく寄与していると想像させる。本研究は糖のみのカラメル反応を扱ったが、加熱によってアミノ化合物(アミノ酸など)と糖が反応(アミノカルボニル反応)して重合し、メラノジンの様な新しい茶褐色混合物質を作ること知られている¹¹⁾。それらにもがん予防各種効果が存在するのかを確かめるつもりでいる。ともかく、これらの現象はヒトが火を利用したときから始まっているとも言えよう¹²⁾。今後、加熱(料理)の健康への関わりを色々な角度から研究してみたい。

謝辞

筆頭筆者の研究は、佐藤昇志札幌医科大学名誉教授が開発した悪性形質転換株W14を供与頂き、それを使用した。その後、その細胞株ががん幹様細胞株と判明し、筆者の研究を大いに支えてくれた。加えて各種物質の遺伝子作用の検出には同大学元研究補助員高谷あかり博士にお願いした。終わりに際し、札幌医科大学医学部病理学第一講座に研究の場を設けて頂き、そこでご指導頂いた同大学元学長菊地浩吉先生初め、同講座の各先生・各位に心から御礼を申し上げる。

文献

- 1) 中原勝よし, 色の科学, 培風館, p100-p129, 1985.
- 2) 杉村隆, 発がん物質, 中公新書, p.288, 1882.
- 3) Saito, E., Inoue, M., Sawada, N., Shimazu, T., et al., Association of coffee intake with total and cause-specific mortality in a Japanese population: the Japan Public Health Center-based Prospective Study, *Am J Clin Nutr*, 2015; 101 (5) : 1029-1037.
- 4) 高橋延昭, 札幌医科大学医学部附属臨海医学研究所での研究30年誌 - 前浜に教えられて -, 札幌医科大学医学部附属臨海医学研究所紀要, 7 : 2008, 1-33.
- 5) 高橋延昭, 海藻・昆布と生物活性物質, 日本医事新報, No. 4349 : 2007. 68-74.
- 6) 山田信夫: 海藻フコイダンの科学, 成山堂, 東京, 2006, p176.
- 7) ペコリーノ: がんの分子生物学, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 2017, p175 - 199.
- 8) Yagihashi, A., Sato, N., Torigoe, T., Okubo, M., et al,

Identification of the transformation-associated cell surface antigen expressed on the rat fetus-derived fibroblast. *Cancer Res.*, 1988; 48: 2798-2804.

- 9) Kanki, K., Torigoe, T., Hirai, I., Sahara, H., et al., Molecular cloning of rat NK target structure—The possibility of CD44 involvement in NK cell-mediated lysis, *Microbiol. Immunol.*, 2000; 44 (12) : 1051-1061.
- 10) 岸原士郎, メーカーによるグラニュー糖の加熱特性の違い, 畜産業振興機構, 2008.
<2020.10.19 アクセス>
https://sugar.alic.go.jp/japan/example_03/example0811a.htm
- 11) 小倉明彦, 実況・料理生物学, 大阪大学出版会, 大阪, 2011, p223
- 12) リチャード・ランガム, 火の賜物 - ヒトは料理で進化した, NTT 出版, 東京, 2010, p266.