

海洋脂質から調製した共役および トランス脂肪酸の生理機能に関する研究

学位論文内容の要旨

生活習慣病の原因は多種多様であるが、その発病と進行に脂質が関与していることが、疫学調査から明らかとなっている。また、外食産業と加工食品の流通が特に先進諸国で拡大し、結果的に我々日本人も含めこれらの国では、畜肉及び植物由来の脂質や糖の過剰摂取による生活習慣病が増加している。こうした現状から、栄養素材の生活習慣病に及ぼす影響が注目されており、その中でも脂質の質とその機能性が問い直されている。例えば、水産物に多く含まれるエイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）は抗動脈硬化、抗肥満作用、痴呆予防や学力向上作用等の生理機能が知られており、また、リノール酸（LA）の異性体である CLA は、抗肥満、抗動脈硬化、抗癌作用等様々な生理作用を有することが報告されている。CLA の生理作用はその共役二重結合によるものであると考えられているが、LA 以外にも、リノレン酸（LN）、EPA 及び DHA など、二重結合を複数有する脂肪酸であれば、その共役異性体の存在は考えられる。現に、海藻中には共役エイコサペンタエン酸（CEPA）が存在することも知られている。また、ある種の植物種子油中には共役リノレン酸（CLN）が多量に含まれている。これらの共役脂肪酸（CLN、CEPA 及び共役ドコサヘキサエン酸（CDHA））は新たな機能性脂肪酸として注目されるが、その生理機能については CLN についてわずかな報告がある以外、これまでほとんど検討されてこなかった。一方、一般の脂肪酸の二重結合はシス型であるが、共役脂肪酸の二重結合は通常その一部あるいは全部がトランス型をとる。一般に良く知られているトランス脂肪酸は、二重結合を1個有するモノ不飽和トランス脂肪酸であり、心疾患等を誘発することが報告されている。しかし、CLA や CLN のように二重結合が複数ある場合、トランス型をとっていても生体にとって悪影響を及ぼすのではなく、様々な有益な生理作用を示す。したがって、二重結合1個のトランス脂肪酸と二重

結合を2個以上有するトランス脂肪酸はまったく異なった生理作用を示す可能性がある。特に二重結合を多数有するEPAやDHA由来の非共役型のトランス脂肪酸(トランスEPAとトランスDHA)の生理作用については非常に興味をもたれるが、こうしたトランス脂肪酸の生理作用に関する知見は少ない。

そこで、本研究では、EPAやDHA由来の共役脂肪酸とトランス脂肪酸について、その生理作用を中心とした検討を行った。まず、第2章では、アルカリ異性化法によってLN、AA、およびDHAから共役型脂肪酸(CLN、CAA、CDHA)を調製し、これらの癌細胞に対する増殖抑制効果について、ヒトリンパ腫細胞(U937)を用いて検討した。その結果、各共役型脂肪酸は癌細胞に対する強い増殖抑制作用を示し、かつ、その活性本体は共役トリエン構造であることが分かった。また、CDHAは含有している共役トリエン酸がCLNより少ないが、CLNと同程度の増殖抑制作用を示した。このことより、DHA由来の共役トリエン酸は、LN由来の共役トリエン酸よりも強い活性を示すと考えられた。その他、第2章では、CLNを含む各植物種子油(ニガウリ、ザクロ、キササゲ、キンセンカ)の癌細胞に対する増殖抑制効果についても検討した。その結果、CLNの癌細胞に対する増殖抑制効果は異性体の構造によっても異なることが分かった。

第3章では、魚油の主な構成成分であるEPAおよびDHA由来の非共役型トランス脂肪酸を調製し、CEPAやCDHAの癌細胞に対する増殖抑制作用との比較を行った。その結果、CEPAとCDHAは非常に強い活性を示すことが分かった。一方、トランスEPAやトランスDHAも細胞に対して増殖抑制作用を示したが、その活性はCEPAとCDHAと比較して弱いことが明らかとなった。また、これらの細胞死はアポトーシスと関連していることも示唆された。ただ、トランスEPAおよびトランスDHAの癌細胞に対する増殖抑制作用についての報告はこれまでになく、本実験における結果は新たな機能性脂肪酸を創出する上で重要な知見であると考ええる。

細胞実験の結果より、EPAやDHA由来の共役型脂肪酸とトランス型脂肪酸がそれぞれ特徴ある生理作用を示す可能性が示されたので、第4章では、これらの脂肪酸をラットに摂取させた場合の脂肪重量や血清脂質に及ぼす影響について検討した。まず、白色脂肪組織(WAT)重量について比較したところ、トランスDHAとCEPA投与によりWATが有意に減少し、CDHA投与でも減少傾向が見られた。このことより、CEPAとCDHA及びトランスDHAは体脂肪減少作用を示すことが明らかとなった。また、血漿総コレステロールは、トランスEPA、トランスDHA、CDHA投与群で有

意に減少した。さらに、トリグリセリドと総脂質は、トランス EPA、トランス DHA、CEPA、CDHA 各群で有意に減少、または減少傾向が見られた。これまでに、モノ不飽和のトランス脂肪酸は、血漿中の LDL コレステロールを増加させ、かつ、HDL コレステロールを低下させることで動脈硬化を誘発するとされていた。しかし、本研究により、トランス EPA とトランス DHA は、これらのモノ不飽和トランス脂肪酸とは逆に血漿脂質の改善作用を示すことが始めて明らかにされた。

第 5 章では、共役脂肪酸のモデル系として CLN 含有植物種子油を用いて、生体内での代謝を中心に検討を行った。その結果、ラットあるいはマウスの肝臓総脂質には、飼料として与えた種子油由来の CLN はほとんど検出されず、CLN のメチル末端側の二重結合が 1 個飽和化されることで生成する CLA が検出された。また、小腸の総脂質からも CLA が検出されたことから、実際には小腸への吸収の時点で多くの CLN が CLA へと変換されていることが予想された。以上より、CDHA や CEPA 投与でも二重結合の飽和化によって生成される共役ジエン酸の生成が予想される。したがって、CDHA や CEPA の生理作用は、CEPA や CDHA の代謝産物が関与していることも考えられた。

最後に、第 6 章では、魚油中のトランス脂肪酸の存在について GC/MS により分析した。その結果、EPA エチルエステル製剤中にはトランス EPA が約 1% 検出されたが、その他の魚油中には EPA 及び DHA 由来のトランス脂肪酸は検出されなかった。したがって、特定の植物種子油（ニガウリやザクロ）を利用する場合を除き、一般には二重結合を多数有するトランス脂肪酸を摂取する機会はほとんどないことが示された。

本研究において、CEPA と CDHA 及びトランス EPA とトランス DHA が生体に対して有益な作用を示すことが始めて明らかにされた。CEPA については海藻中にその存在が知られているがその含量は少ない。したがって、これらの EPA 及び DHA 由来の機能性の共役脂肪酸とトランス脂肪酸を得る方法として、化学的あるいは酵素的な調製法について今後検討する必要がある。特に最近、海藻中での共役異性化及びトランス異性化酵素の存在が報告されており、こうした海藻酵素を用いた EPA 及び DHA 由来の機能性脂肪酸の供給が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 下 和 夫

副 査 教 授 板 橋 豊

副 査 教 授 平 田 孝

副 査 助教授 細 川 雅 史

学 位 論 文 題 名

海洋脂質から調製した共役および

トランス脂肪酸の生理機能に関する研究

生活習慣病の原因は多種多様であるが、その発病と進行に脂質が関与していることが、疫学調査から明らかとなっている。こうした現状から、栄養素材の生活習慣病に及ぼす影響が注目されており、その中でも脂質の質とその機能性が問い直されている。例えば、水産物に多く含まれるエイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）は抗動脈硬化、抗肥満作用、痴呆予防や学力向上作用等の生理作用が知られており、また、リノール酸（LA）の異性体であるCLAは、抗肥満、抗癌作用などの機能を有することが報告されている。CLAの機能性はその共役二重結合とトランス構造によるものであると考えられているが、LA以外にも、リノレン酸（LN）、EPAおよびDHAなど、二重結合を複数有する脂肪酸であれば、その共役異性体やトランス異性体の存在は考えられる。したがって、これらの共役脂肪酸（CEPAやCDHA）やトランス脂肪酸（トランスEPAやトランスDHA）は新たな機能性脂肪酸として非常に興味をもたれるが、その生理機能についてはこれまでほとんど検討されてこなかった。そこで、本研究では、EPAやDHA由来の共役脂肪酸とトランス脂肪酸について、その生理作用を中心とした検討を行った。本研究で得られた新知見は以下の通りである。

1. 化学触媒を用いた異性化法によってCEPAとCDHAおよびトランスEPAとトランスDHAを調製し、これらの癌細胞に対する増殖抑制効果について検討した。その結果、CEPAとCDHAは癌細胞に対する非常に強い増殖抑制作用を示し、かつ、その活性本体は共役トリエン構造であることが明らかになった。一方、トランスEPAとトランスDHAの活性はCEPAとCDHAよりも弱いことが分かった。また、これらの細胞死はアポトーシスと関連していることも示唆された。

2. トランスEPAとトランスDHA及びCEPAとCDHAをラットに摂取させた場合の白色脂肪組織（WAT）重量に及ぼす影響について検討したところ、トランスDHAとCEPA投与によりWATが有意に減少し、CDHA投与でも減少傾向が見られた。このことより、CEPAとCDHA及びトランスDHAは体脂肪減少作用を示すことが明らかになった。

3. トランスEPA、トランスDHA、CDHAは血漿総コレステロールを、また、トランスEPA、トランスDHA、CEPA、CDHAは、トリグリセリドと総脂質を減少させることが明らかになった。これまでに、モノ不飽和のトランス脂肪酸は、血漿中のLDLコレステロールを増加させ、かつ、HDLコレステロールを低下させることで動脈硬化を誘発するとされていた。しかし、本研究により、トランスEPAとトランスDHAは、これらのモノ不飽和トランス脂肪酸とは逆に血漿脂質の改善作用を示すことが始めて明らかになった。

4. さらに、共役脂肪酸のモデル系としてCLNを用いて、生体内での代謝を中心に検討を行った。その結果、ラットあるいはマウスの肝臓総脂質には、飼料として与えた種子油由来のCLNはほとんど検出されず、CLNのメチル末端側の二重結合が1個飽和化されることで生成するCLAが検出された。また、小腸の総脂質からもCLAが検出されたことから、実際には小腸への吸収の時点で多くのCLNがCLAへと変換されていることが分かった。以上より、CDHAやCEPA投与でも二重結合の飽和化によって生成される共役ジエン酸の生成が予想される。したがって、CDHAやCEPAの生理作用は、CEPAやCDHAの代謝産物が関与していることも考えられた。

5. 本研究において、CEPAとCDHA及びトランスEPAとトランスDHAが生体に対して有益な作用を有することが始めて明らかにされた。また、これらのEPA及びDHA由来の機能性の共役脂肪酸とトランス脂肪酸を得る方法として化学的調製法を確立できた。最近、海藻中での共役異性化及びトランス異性化酵素の存在が報告されており、こうした海藻酵素を用いたEPA及びDHA由来の機能性脂肪酸の供給も今後期待される。

本研究で明らかとなったEPA異性体およびDHA異性体の抗腫瘍活性、抗肥満作用並びに脂質代謝改善作用は、水産物由来の新たな高機能性物質を創出する上で画期的な成果と考えられる。また、本研究で得られた成果は、EPAやDHAなどを多く含む水産物の有効利用を図る上で有益な知見を与えるものと考えられる。よって、審査員一同は本論文が博士(水産科学)の学位を授与される資格のあるものと判定した。