

学 位 論 文 題 名

Distribution, Structural Analysis, and Biological Activity
of Unusual Fatty Acids in Marine Algae

(海藻に存在する希少脂肪酸の分布, 構造, 生物活性に関する研究)

学位論文内容の要旨

海藻の細胞膜を構成する脂質は陸上植物とは大きく異なり, アラキドン酸 (20:4n-6) やエイコサペンタエン酸 (20:5n-3) などの高度不飽和脂肪酸を多く含む。このため, 海藻の生化学や化学分類 (chemotaxonomy) の研究では, 専らこれら高度不飽和酸に焦点があてられてきた。本研究では, ある種の海藻にシクロプロパン環やシクロペンタン環などの環状構造を有する脂肪酸や non-methylene interrupted (NMI) 型二重結合を有する特異な脂肪酸の存在することに着目し, 研究が進展していないこれら希少脂肪酸の種々の海藻における分布と構造の詳細を明らかにすることを試みた。また, 環状脂肪酸を多く含む海藻抽出物の脂質異常症に対する効果についても検討した。

第 1 章では, 日本と韓国で採集した様々な海藻 (紅藻 12 種, 褐藻 8 種, 緑藻 3 種) の脂肪酸組成の特徴, 特に希少脂肪酸の存在について検討した。その結果, 分析したすべての紅藻は, これまで知られているように 20:4n-6 または 20:5n-3 の C₂₀ 高度不飽和脂肪酸を多く含んだが, Gigartinales の Solieriaceae 属の紅藻のみから, これら高度不飽和脂肪酸に加えて, 環状構造を有すると思われる脂肪酸が検出された。褐藻からは従来知られている C₁₈ と C₂₀ の高度不飽和脂肪酸の他に, *Sargassum* 種からは 5 位に二重結合をもつと推測される NMI 脂肪酸が検出された。緑藻にはこれまで知られている C₁₆ と C₁₈ 不飽和脂肪酸が多く含まれていた。これらの結果は, 環状脂肪酸や NMI 脂肪酸などの希少脂肪酸が海藻の分類に役立つことを示しており, chemotaxonomy の観点から興味深い。

第 2 章では, 褐藻 *Sargassum* に存在する NMI 脂肪酸の構造を決定した。*Sargassum* の海藻に NMI エイコサジエン酸 (20:2-NMI 酸) の存在することは知られているが, 二重結合位置については 5,11- と 4,9- の 2 つの異なる構造が報告されている。いずれの報告も, その構造解析が不十分であると考えられたことから, 本章では, 5 つの *Sargassum* 種 (*S. fulvellum*, *S. horneri*, *S. boreale*, *S. thunbergii* 及び *S. yezoense*) の NMI 脂肪酸の構造を Ag イオン固相抽出, ガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC-MS) 及び赤外線分光分析 (IR) を用いて決定した。その結果, *Sargassum* の特徴的脂肪酸である 20:2 NMI 酸はこれまで報告された 5,11-20:2

でも 4,9-20:2 でもなく, 5,9-20:2 (*cis/cis* 配置) であることが明らかになった (Fig. 1)。さらに, これらの *Sargassum* 海藻から微量の 20:3 と 20:4 の NMI 酸が検出され, その構造を 5,11,14-20:3 と 5,11,14,17-20:4 と決定した。分析した 5 種の *Sargassum* における 5,11-20:2 含量は総脂肪酸中 0.4~2.3% であり, *S. boreale* が最も高い値を示した。

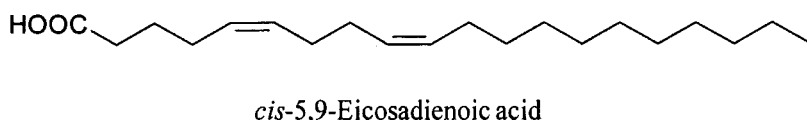


Fig. 1. Structure of *cis*-5,9-eicosadienoic acid from *Sargassum* species.

第 3 章では, 紅藻 Solieriaceae から見出された環状脂肪酸の構造を決定した。Solieriaceae (Gigartinales, Rhodophyta) 属は多量のカラギーナンを含有し, 食用として消費されており, インドネシアやフィリピンなど東南アジアで大量に培養されている商業的に重要な海藻である。Miralles ら (1990) は 5 種の Solieriaceae 海藻 (*Agardhiella tenera*, *Anatheca montagnei*, *Euchema cottonii*, *E. spinosum* 及び *Meristotheca senegalensis*) から 2 つのシクロペンチル脂肪酸 [11-cyclopentylundecanoic acid (cy16:0) と 13-cyclopentyltridecanoic acid (cy18:0)] と *n*-5 モノ不飽和脂肪酸 (16 : 1*n*-5 と 18 : 1*n*-5) の脂肪酸を見出している。本章では, 数種の Solieriaceae 種の脂肪酸を GC-MS と IR を用いて詳細に分析した結果, 上記の脂肪酸の他に, これまでどんな海藻からも見出されていないシクロプロパン脂肪酸 (*cis*-11,12-methylene-hexadecanoic acid, cy17:0) を *Solieria pacifica* と *S. filiformis* から初めて検出し, その構造を決定した (Fig. 2)。この環状脂肪酸は藻体内において, 16 : 1*n*-5 にアデノシルメチオニン由来の CH₂ が付加して生成するものと考えられた。

第 4 章では紅藻 Solieriaceae に属する *Kappaphycus alvarezii* の脂肪酸を詳細に分析し, その組成を明らかにすることを試みた。*K. alvarezii* はインドネシアやフィリピンで大量に培養されている商業上重要な海藻である。最近, この海藻の化学 (栄養) 成分が活発に研究されているが, これまで報告された論文には 第 3 章 で述べた Solieriaceae 属に特有の環状脂肪酸に関する記述は見当たらない。本章において, インドネシア産 *K. alvarezii* の脂肪酸を GC-MS, NMR, IR を用いて分析した結果, 2 つのシクロペンチル脂肪酸 (11-cyclopentylundecanoic acid と 13-cyclopentyltridecanoic acid) が存在することを見出した。しかし, 申請者が *Solieria* 種から見出したシクロプロパン脂肪酸 (*cis*-11,12-methylene-hexadecanoic acid) は検出されなかった。これらの結果から, 2 つのシクロペンチル脂肪酸は Solieriaceae 属を特徴づける脂肪酸であり, さらに, シクロプロパン脂肪酸は *Solieria* 種だけに存在する

Solieria に特有の脂肪酸であることが明らかになった。

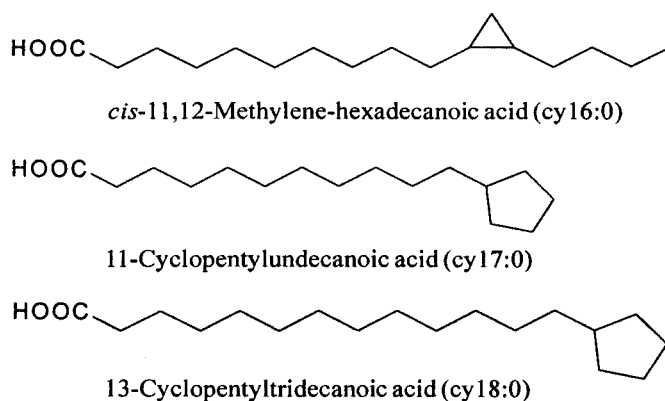


Fig. 2. Structures of cyclic fatty acids of *Solieria pacifica*.

第 5 章では、紅藻 *Solieria filiformis* の栄養成分について検討した。本藻は沖縄（久米島）で海洋深層水を使って大量に培養され、海藻サラダや佃煮として食されているが、栄養成分、特に脂質に関する情報は得られていない。本章において、栄養成分を詳しく調べた結果、*S. filiformis* はミネラル、食物繊維、タンパク質、必須アミノ酸、不飽和脂肪酸及び環状脂肪酸が豊富に存在することが明らかになった。人と動物のヘルシーフードとしての本藻の今後の普及が期待される。

第 6 章では、前章で明らかにした *S. filiformis* の化学成分の中で特に脂質成分について、さらに詳細に検討した。海藻の細胞膜を構成する脂質の主要成分は、グリセロ糖脂質とグリセロリン脂質であり、ともに光合成において重要な役割を果たしている。これらグリセロ脂質は生物に対して種々の活性を示すことが知られている。例えば、海藻に存在する主要なグリセロ糖脂質であるモノガラクトシルジアシルグリセロール（MGDG）、ジガラクトシルジアシルグリセロール（DGDG）及びスルホキノボシルジアシルグリセロール（SQDG）は海洋動物に対して摂食刺激作用、着底・変態誘起作用などの活性を有し、また哺乳動物に対しては、抗発癌プロモーション活性、難吸収性物質の吸収促進作用、抗高脂血症作用などの活性を示す。グリセロリン脂質はアルツハイマー病や老人性痴呆症を改善する効果、血液凝固、血小板凝固反応を阻害する作用などの活性を示す。一般に生体成分は構造や組成のわずかな相違でも代謝や生理作用が大きく異なるため、グリセロ脂質分子種を精密に分析することは脂質代謝ばかりでなく、食品や医薬品に利用する上でも重要である。したがって、本章では、主要脂肪酸として不飽和脂肪酸と環状脂肪酸を含む *S. filiformis* の主要脂質クラス（MGDG, DGDG, SQDG 及び PC）の分子種と構成脂肪酸を明らかにすることを試みた。環状脂肪酸は

いずれの脂質クラスからも検出されたが、SQDG や PC よりも MGDG と DGDG 画分に多く存在した。主要分子種は *sn*-1 位に高度不飽和酸を含む 20:5/16:0 と 20:4/16:0 であった。また、多数の分子種の中で *sn*-1 と *sn*-2 位の脂肪酸が入れ替わった 2 つの位置異性体 (reverse isomers) の混在することが明らかになった (Fig. 3)。これら異性体間の生理作用の違いは不明であり、今後の研究課題である。

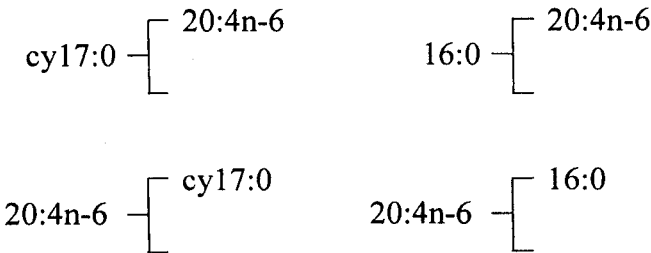


Fig. 3. The reverse isomers of 1,2-diacylglycerols from glycoglycerolipids of *S. filiformis*.

最後に第 7 章では、飽和環状脂肪酸（シクロプロパン酸，シクロペンタン酸）を多く含む紅藻 *Solieria filiformis* 抽出物の脂質異常症に対する効果について検討した。本研究で分析した紅藻 *S. filiformis* 由来の 3 つの環状脂肪酸 (Fig. 2) を含む海藻脂質の生物活性に関する研究はこれまで実施されていない。そこで本章では、*S. filiformis* の溶媒抽出物（エタノールとエーテル）と 3 つの環状脂肪酸を多く含む画分のラットに対する抗脂質異常症効果を調べた。高コレステロール食餌したラットと比較した結果、溶媒抽出物と環状脂肪酸を多く含む画分は、血清脂質，肝臓脂質，糞便脂質，脂質過酸化レベルをかなり増加させ，過酸化物質スーパーオキシド（SOD）濃度はかなり減少した。その中で，環状脂肪酸の抗脂質異常症効果がもっとも強く現われた。これらの結果から，*Solieria* 種に存在する飽和環状脂肪酸は生体内で高い抗脂質異常症効果と抗酸化活性を示すことが明らかになった。

以上，本論文では海藻に含まれる希少脂肪酸の分布，構造，生物作用について研究し，これまで知られていない新たな知見を得た。海藻には本研究で明らかにした NMI 脂肪酸や環状脂肪酸の他に構造未知の希少脂肪酸が多数存在すると思われる。今後，機器分析や生物的手法を駆使して，こうした希少脂肪酸の探索，構造解析，藻体での生理機能を明らかにし，その成果を海藻の新たな利用に繋げたい。

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 酒 井 隆 一

学 位 論 文 題 名

Distribution, Structural Analysis, and Biological Activity of Unusual Fatty Acids in Marine Algae

(海藻に存在する希少脂肪酸の分布, 構造, 生物活性に関する研究)

海藻の細胞膜を構成する脂質は陸上植物とは大きく異なり, アラキドン酸やエイコサペンタエン酸などの高度不飽和脂肪酸を多く含む。このため, 海藻の生化学や化学分類, 栄養学の研究では, 専らこれら高度不飽和酸に焦点があてられてきた。本研究は, シクロプロパン環やシクロペンタン環など環状構造を有する脂肪酸や non-methylene interrupted (NMI) 型二重結合を有する特異な脂肪酸に着目し, 研究が進展していないこれら希少脂肪酸の種々の海藻における分布, 構造及び栄養効果を明らかにしようとしたものである。得られた結果は以下の様に要約される。

- (1) 日本と韓国で採集した様々な海藻の脂肪酸をガスクロマトグラフィー (GC) を用いて詳細に分析した。その結果, ミリン科 Solieriaceae の紅藻のみに, 環状構造を有する脂肪酸の存在することを見出した。ホンダワラ属の褐藻 *Sargassum* からは 5 位に二重結合をもつと推測される NMI 脂肪酸を検出した。これらの結果は, 環状脂肪酸や NMI 脂肪酸などの希少脂肪酸が海藻の分類に有効であることを示しており, chemotaxonomy の観点から興味深い。
- (2) Ag イオン固相抽出法, ガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC-MS) 及び赤外分光法 (IR) を用いて, *Sargassum* の海藻 (*S. fulvellum*, *S. horneri*, *S. boreale*, *S. thunbergii* 及び *S. yezoense*) に存在する NMI ジエン酸の構造を 5,9-20:2 (*cis/cis* 配置) と決定した。この結果は, これまで 5,11-20:2 と 4,9-20:2 と報告されてきた *Sargassum* 由来 NMI ジエン酸の構造が, いずれも誤りであることを明らかにしたものである。また, *Sargassum* 海藻から微量の 20:3 と 20:4 のポリエン酸を検出し, その構造も 5 位に二重結合を有する NMI 酸 (5,11,14-20:3 と 5,11,14,17-20:4) であることを明らかにした。分析した海藻の中で, *S. boreale* が最も多く 5,11-20:2 を含むことを見出した (総脂肪酸中 2.3%)。今日, NMI 脂肪酸の生物学的役割と生理活性については十分解明されていないことから, 本藻が, 5,11-20:2 の機能を探るための研究材料として有用であると考えられる。
- (3) Solieriaceae 科の海藻 (*Solieria filiformis*, *Solieria pacifica*, *Kappaphycus alvarezii*) の脂肪酸を GC-MS を用いて詳細に分析した結果, 2 つのシクロペンチル脂肪酸 (11-cyclopentylundecanoic acid, 13-cyclopentyltridecanoic acid)

の存在することが明らかになった。また、これまでどんな海藻から見出されていないシクロプロパン脂肪酸を *S. pacifica* と *S. filiformis* から初めて検出し、その構造を *cis*-11,12-methylene-hexadecanoic acid と決定した。これら環状脂肪酸は、海藻に付着する微小生物からは検出されなかったことから、*cis*-11,12-methylene-hexadecanoic acid は、藻体内に多く存在する 16:1n-5 にアデノシルメチオニン由来の CH_2 が付加して生成するものと結論した。2つのシクロペンチル脂肪酸はミリン科 *Solieriaceae* の海藻を特徴づける脂肪酸であり、シクロプロパン脂肪酸はミリン属 *Solieria* の海藻だけに存在する脂肪酸であることを明らかにした。

- (4) 微生物リパーゼの位置特異性を利用した分析により、*Solieriaceae* 科の海藻に含まれる環状脂肪酸はガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG, DGDG) 画分に多く存在し、これら脂質分子の *sn*-1 と *sn*-2 位の両位置に比較的均等に分布することを明らかにした。また、逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と HPLC/MS を駆使して、ガラクトシルジアシルグリセロール分子中に *sn*-1 と *sn*-2 位の脂肪酸の入れ替わった位置異性体 (reverse isomers, たとえば、*sn*-1-環状脂肪酸/*sn*-2-16:0 と *sn*-1-16:0/*sn*-2-環状脂肪酸) が混在することを見出した。これらの結果は、海藻の環状脂肪酸に関する重要な知見であるが、異性体間の生理作用の違いは不明であり、今後の研究課題として残された。
- (5) ミリン科の海藻 *Solieria filiformis* に存在する環状脂肪酸に、高い抗脂質異常症効果と抗酸化活性のあることをラットを用いた実験により明らかにした。また、海洋深層水を使って培養した本海藻の栄養成分を詳細に分析した結果、ミネラル、食物繊維、タンパク質、必須アミノ酸、不飽和脂肪酸 (アラキドン酸、エイコサペンタエン酸) も豊富に含まれることを見出し、本海藻が食品として優れた特徴を有することを明らかにした。

以上、本研究は希少脂肪酸 (NMI 酸、環状脂肪酸) の海藻における分布、構造、栄養効果を明らかにしたものであり、よって審査員一同は、申請者が博士 (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。