

微生物による機能性脂質の生産（育児用ミルク添加用脂質の実用生産を中心として）

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 清水 昌

はじめに

アラキドン酸 (AA;20:4n-6)、共役リノール酸 (CLA;9c11t18:2, 9t11c18:2, etc) などの C18-C22 高度不飽和脂肪酸 (PUFA) は、それ自体がユニークな生物活性を有するため、あるいはプロスタグランジン類の前駆体としても注目され、医薬品や食品添加物、飼料添加物としての用途開発が進められている。現在、これら PUFA を含む油脂類の供給は限定されており、魚油がエイコサペンタエン酸 (EPA;20:5n-3) およびドコサヘキサエン酸 (DHA;22:6n-3) の供給源として利用されているのみである。他の PUFA に関しては適切な供給源もあまり知られていなかった。演者らはこれらの PUFA あるいは PUFA 含有油脂の新しい供給源を微生物に求め、糸状菌 *Mortierella alpina* 1S-4 が脂質含量が高く AA 生産菌として優れた特性を有することを見いだした。現在、*M. alpina* 1S-4 を用い高密度培養することにより、高い AA 含量の油脂（トリアシルグリセロール）の工業的生産が行われている。また、本菌から誘導した各種脂肪酸不飽和化酵素変異欠損株を用い PUFA 生合成の経路を分断あるいは変更することで、新しい生合成経路（図 1）を作りだす試みも展開されており、n-9、n-6、n-3 系列の C20PUFA をはじめ、様々な PUFA を選択的に著量生産する技術が確立されている。一方、CLA についても乳酸菌などの細菌がリノール酸 (18:2n-6) を効率よく活性型 CLA へと変換できることを明らかにした。このようにして生産される油脂は、性状・機能とも植物や動物からは効率よく得ることができないユニークなものであり、微生物がつくるということから、「発酵油脂」と呼ばれている。さらに、*M. alpina* 1S-4 の PUFA 生合成に関与する各種不飽和化酵素や鎖長延長酵素をコードする遺伝子も単離されており、異種微生物や油糧植物への遺伝子導入によるユニークな脂肪酸組成の油脂生産へ向けた研究も展開されつつある。本講演会では、この分野における最近の成果について紹介する。

C20PUFA の生産

n-6 系 PUFA 含有油脂

M. alpina 1S-4 はグルコースを含む単純な培地によく生育し AA を含むトリアシルグリセロールを菌体内に著量蓄積する。最適条件下での AA 生産量は 15-20 g/l に達し、得られた菌体のトリアシルグリセロール含量は 500-600 mg/g 乾燥菌体、油脂の全脂肪酸中の AA 量は 30-70%に達する。これにより、AA を高い含量で含むユニークな脂肪酸組成の微生物油脂（発酵油脂）の実用生産が可能になった。

AA の生合成（図 1A）の前駆体であるジホモ- γ -リノレン酸 (DGLA;20:3n-6) の生産は、本菌の培地にゴマの抽出物を添加することで可能となる。これは胡麻種子中に含まれるセサミンが DGLA から AA への変換に関与する $\Delta 5$ 不飽和化酵素を特異的に阻害するためである。この阻害剤添加発酵法が開発されるまでは DGLA の有望な供給源はなかった。後に、*M. alpina* 1S-4 の胞子を変異処理することで得られた種々の変異株（変異株のリストは図

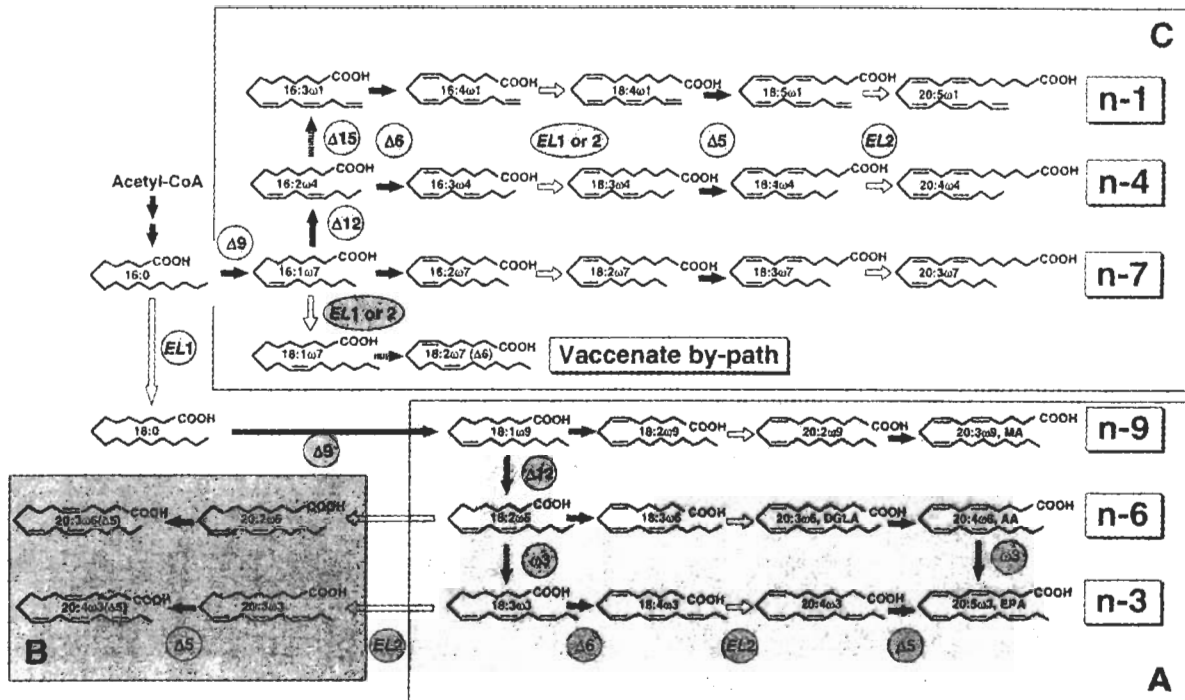


図1. *M. alpina* 1S-4 およびその変異株における C20PUFA の生合成経路。

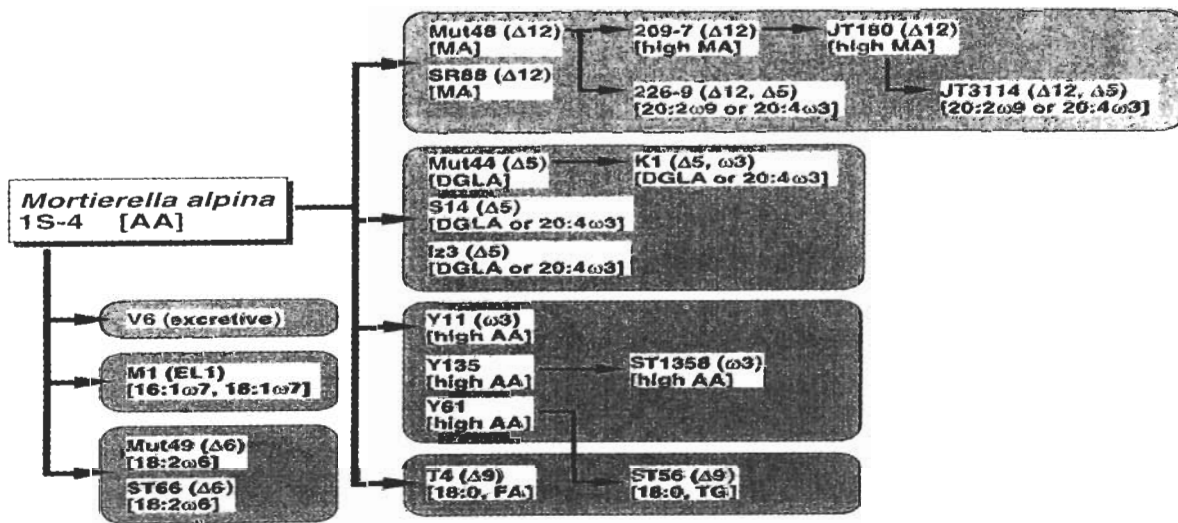


図2. *M. alpina* 1S-4 から誘導された様々な変異株。
()内は変異の位置、[]内は主たる生成脂肪酸を示す。
FA, 遊離脂肪酸; TG, トリアシルグリセロール。

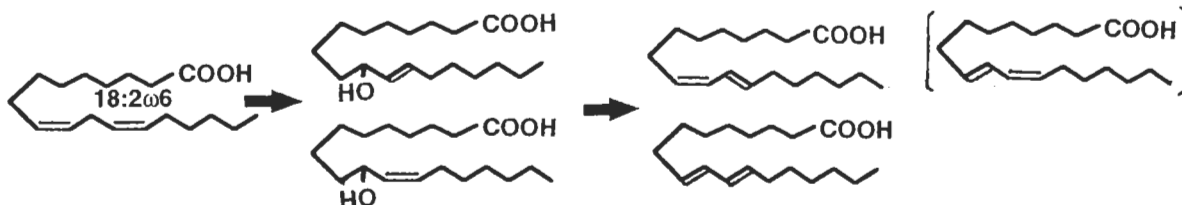


図3. 乳酸菌によるリノール酸から共役リノール酸(CLA)への推定変換経路。

2 参照) から選ばれた $\Delta 5$ 不飽和化酵素欠損変異株を用いる方法が開発され、総脂肪酸中の DGLA 含量が 20-50% でほとんど AA を含まない (1% 以下) DGLA 油脂の生産が可能となっている。

n-9 系 PUFA 含有油脂

n-9 系 PUFA の生合成経路 (図 1A) の最終生産物であるミード酸(MA; 20:3n-9) は、軟骨組織、胎盤、実験的に作製された必須脂肪酸欠乏動物などに微量存在する脂肪酸である。MA の実用的供給源もこれまで知られていなかった。*M. alpina* 1S-4 から得た $\Delta 12$ 不飽和化酵素欠損変異株では、オレイン酸(18:1n-9) を n-6 経路の親脂肪酸である 18:2n-6 に変換できない。このような変異株では、n-6 経路は機能せず、本来ほとんど機能しないはずの n-9 経路が優勢となる。よって、蓄積した 18:1n-9 は徐々に MA に変換される。得られた油脂の構成脂肪酸は少量の飽和脂肪酸と 18:1n-9 以降の n-9 脂肪酸であり、MA の含量は 33% に達する。このようにして、これまで天然には存在しなかった n-9 系脂肪酸で構成されるユニークな油脂の生産が可能となった。また、 $\Delta 12$ 不飽和化酵素欠損変異株より誘導した $\Delta 12$ 、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素 2 重欠損変異株を用いると MA 生合成の前駆体である 8, 11-cis-エイコサトリエン酸(20:2n-9) の生産が可能である。

n-3 系 PUFA 含有油脂

M. alpina 1S-4 を 20°C 以下の低温で生育させると $\omega 3$ ($\Delta 17$) 不飽和化酵素が誘導生成する。従って、n-6 経路を経て生成蓄積した AA は、本酵素反応によってさらに変換を受け EPA となる。この現象を利用すると、AA と EPA を含む油脂の生産が可能となる。また、親株に代えて $\Delta 5$ 不飽和化酵素欠損株を用いると、DGLA から 8, 11, 14, 17-cis-エイコサテトラエン酸 (20:4n-3) への変換も可能である。

M. alpina 1S-4 のもうひとつのユニークな性質として、C14、C16、C18 などの脂肪酸の効率よい取り込み能と C20PUFA への変換能がある。例えば、n-3 経路の親脂肪酸である α -リノレン酸 (18:3n-3) は、培地に加えると容易に EPA へ変換される。従って、上記の n-6 経路が機能しない $\Delta 12$ 不飽和化酵素欠損変異株にこの性質を適用すると、理論的には n-6 系 PUFA を全く含まない独特の EPA 含有油脂の生産が可能である (この場合、n-3 経路は n-9 経路に優先して機能する)。 α -リノレン酸源として安価で α -リノレン酸含量の高い (全脂肪酸の約 60%) アマニ油を含んだ培地でこの変異株を培養すると、生成する油脂中の n-3 系 PUFA の割合は 47% となる (EPA, 20%; 18:3n-3, 20%; その他, 7%)。一方、アマニ油中のリノール酸に由来する n-6 系 6PUFA の割合は 10-20% である。同様にアマニ油を含む培地で上記の $\Delta 12$ 、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素 2 重欠損変異株を培養すると、EPA の前駆体である 20:4n-3 が著量蓄積する。

$\Delta 6$ 不飽和化酵素の欠損により誘導される経路で生成する PUFA を含む油脂

$\Delta 6$ 不飽和化酵素が欠損すると n-6 経路は $\Delta 6$ 不飽和化反応を省略して進行する (図 1B 参照)。すなわち、親脂肪酸である 18:2n-6 は鎖長延長酵素 (EL2) により直接鎖長延長され C20PUFA となり、さらに $\Delta 5$ 不飽和化酵素により不飽和化され、 $\Delta 8$ 位の 2 重結合が欠落した C20PUFA が生成する (18:2n-6 \rightarrow 20:2n-6 \rightarrow 20:3n-6 ($\Delta 5$))。同様のことは 18:3n-3 を

親脂肪酸として n-3 経路でも起こる ($18:3n-3 \rightarrow 20:3n-3 \rightarrow 20:4n-3(\Delta 5)$)。しかし、同じことが n-9 経路でも起こるか否かは確認されていない。

鎖長延長酵素の欠損により誘導される経路で生成する PUFA を含む油脂

図 1 に示すように、16:0 から AA への変換には C16→C18 および C18→C20 の 2 種の鎖長延長反応が関与する。最近、前者の鎖長延長反応に関与する酵素 (*EL1*) が部分的に欠失した変異株が得られた。本変異株は当然 16:0 を著量蓄積する。ガスクロマトグラフィー分析で得られる菌体脂肪酸組成は複雑で、親株 (1S-4) が生成する脂肪酸以外に少なくとも 12 種の未知脂肪酸が検出される。未知脂肪酸を単離・同定し、炭素鎖長と 2 重結合の度合を指標に生合成順に並べたものを図 1C に示した。本変異株で最初に起こる反応は、 $\Delta 9$ 不飽和化酵素による $16:0 \rightarrow 16:1n-7$ への変換である。生成した $16:1n-7$ は $\Delta 12$ 不飽和化酵素、鎖長延長酵素 (*EL1?*, *EL2?*) いずれかによってそれぞれ $16:2n-4$ 、 $18:1n-7$ へと変換され、それぞれ n-4 経路、バクセン酸側路の親脂肪酸となるか、あるいはそのまま n-7 経路の親脂肪酸として使用される。このようにして生成した $16:1n-7$ 、 $16:2n-4$ 、 $18:1n-7$ は $\Delta 6$ 不飽和化酵素によってそれぞれ $16:2n-7$ 、 $16:3n-4$ 、 $18:2n-7(\Delta 6)$ へと変換される。また、 $16:2n-7$ 、 $16:3n-4$ は鎖長延長酵素 (*EL1?*, *EL2?*)、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素、鎖長延長酵素 (*EL2*) によってさらに変換を受け、それぞれ n-7 および n-4 経路の最終脂肪酸である $20:3n-7$ 、 $20:4n-4$ へと変換される。従って、 $16:1n-7$ は図 1A の $18:1n-9$ に相当する脂肪酸とみなせる。また、n-7、n-4 経路はそれぞれ n-9、n-6 経路に対応させることができる。違いは、図 1C の経路では $\Delta 6$ 不飽和化酵素、鎖長延長酵素 (*EL1?*, *EL2?*)、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素、鎖長延長酵素 (*EL2*) の順に酵素が作用することである。*EL1*、*EL2* どちらの酵素が C16PUFA の鎖長延長に関与するかは今のところ不明である。また、これら 3 経路が同時に機能する原因は、各経路の親脂肪酸 ($16:1n-7$ 、 $16:2n-4$ 、 $18:1n-7$) が $\Delta 6$ 不飽和化酵素の基質として同程度の親和性を有するからであろう。同様に図 1C の n-1 経路は、図 1A の n-3 経路に対応するとみなせる。この経路は本変異株では通常の培養条件下では機能しないが、この経路の親脂肪酸となる $16:3n-1$ を培地に添加すると機能し、 $20:5n-1$ が生成する。

遺伝子組換えによる経路変換の試み

M. alpina の PUFA 生合成に関与する酵素をコードする遺伝子の解析も急速な展開をみている。すでに、演者らにより $\Delta 9$ 、 $\Delta 12$ 、 $\Delta 6$ 不飽和化酵素、シトクロム b5、シトクロム b5 還元酵素の各遺伝子が得られ、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素、鎖長延長酵素 (*EL2*) のクローニングも報告されている。これらは、大腸菌、*Saccharomyces cerevisiae*、*Aspergillus niger* や植物に導入され発現・機能することが示されているが、宿主の油脂生産性が低く実用性はない。*M. alpina* の形質転換系の確立が今後の課題である。

油脂の菌体外漏出

最近、油脂漏出性の変異株が得られた。本変異株の油脂生産性、油脂の脂肪酸組成は基本的に親株 (1S-4) と同等であるが、生成した油脂は菌体から漏出し培地に蓄積する。油脂の漏出量は培養条件によって異なるが、生産された全油脂の 10-40% に達する。この現象は、培地のグルコース濃度が高いとき、窒素源として大豆抽出物を用いたとき、特に顕著であ

る。漏出油脂は培地中で水と分離して2層化せず、直径1 μ m程度の粒子として均一に分散するので、粒子は界面活性を有する膜で覆われていると推測される。漏出機構、粒子外膜の性状の解明が待たれる。

CLAの生産

演者らは、スクリーニングにより様々な乳酸菌にC18:2n-6をCLAに変換する活性を見いだした。特に、*Lactobacillus acidophilus*や*L. plantarum*に属する菌株に顕著な活性が認められ、これらの菌株を用いた検討から、この活性は培地に添加18:2n-6により誘導されること、18:2n-6からCLAへの変換は10-hydroxy-12-octadecenoic acidを中間体として進行すること、生成するCLAは9c11t(または9t11c)および9t11tの2種類であること、洗浄菌体を用いた反応条件下では約30 mg/mlのCLAが蓄積することが明らかにされている。

期待される発酵油脂の用途

ここではC18PUFA(GLA)およびC22PUFA(DHA)の生産については述べなかったが、小規模ながら、それぞれ、*Mucor*属糸状菌、*Ulkenia*属海洋性卵菌などを用いた商業生産が行われている。それぞれ、月見草などの植物油および魚油が競合油脂である。これらの生産菌の代謝工学的検討も今後の課題である。

上記のように発酵油脂の生産方式が確立され、従来適当な供給源が知られていなかった種々のPUFA含有油脂や極めてユニークな脂肪酸組成を有する油脂の大量供給が可能となった。すでに、AA含有油脂は乳児用ミルクの添加物として、あるいは種々の乳製品の品質を高めるための素材として使用されている。今後、栄養補助食品素材、医薬品素材などへの用途開発が期待される。

参考文献

- Certik, M., Sakuradani, E., Shimizu, S. (1998) Desaturase-defective fungal mutants: useful tools for the regulation and overproduction of polyunsaturated fatty acids. *Trens Biotechnol.*, **16**, 500-505.
- Certik, M., Shimizu, S. (1999) Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production, *J. Biosci. Bioeng.* **87**, 1-14.
- Shimizu, S., Ogawa, J. (1999) Oils, microbial production, "Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation", ed. by Flickinger, M.C., and Drew, S.W., pp.1839-1851, John Wiley & Sons, New York.
- Ogawa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y., Shimizu S. (2001) Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecaenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*, *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1246-1252.

ゴマ成分セサミンの生理活性 —アルコール代謝と生体内抗酸化を中心として—

秋元 健吾^{*1}, 清水 昌^{*2}

^{*1}あきもと・けんご (サントリー(株)基礎研究所)

^{*2}しずみ・さかゆ (京都大学農学部 農芸化学科)

1. はじめに

ゴマは、良質な食用油脂を供給する貴重な油脂作物として古来から世界中で食されてきた。ゴマ種子は、油糧種子中でも油脂含量が高いこと（約50%）、その油脂（ゴマ油）が特有の芳香を有すること、酸化的劣化に対して高い安定性を示すこと、旋光性を有すること、さらに、オレイン酸やリノール酸などの不飽和脂肪酸を多く含んでいるにもかかわらず長期間貯蔵しても発芽率をはじめとする生理機能を保ちうることなど、他の多くの油糧種子には認められないユニーク特性を有している¹⁾。また、健康機能性を有する補助食品として、あるいは医薬品として古くから使用されてきた点でも、ゴマは他の油糧種子とは異なる位置を占めている。例えば、古代インド医学のアーユルヴェーダにも、ゴマあるいはゴマ油の効能が記されている。中薬大辞典には「肝腎を補い、五臓を潤す。気力、活力、筋力を増す。消炎、止痛、禿頭に髪を生じる。婦人の乳少を治す。精液を補い益す。」と紹介されている。また、日本薬局方にも用途が記載されている。

このような種子油脂としての特異な作用に注目して、ゴマ中に含まれる微量成分に関する研究も進められている。ゴマ油中には (+) -セサミンと数種の関連リグナン化合物（図1）が1%前後

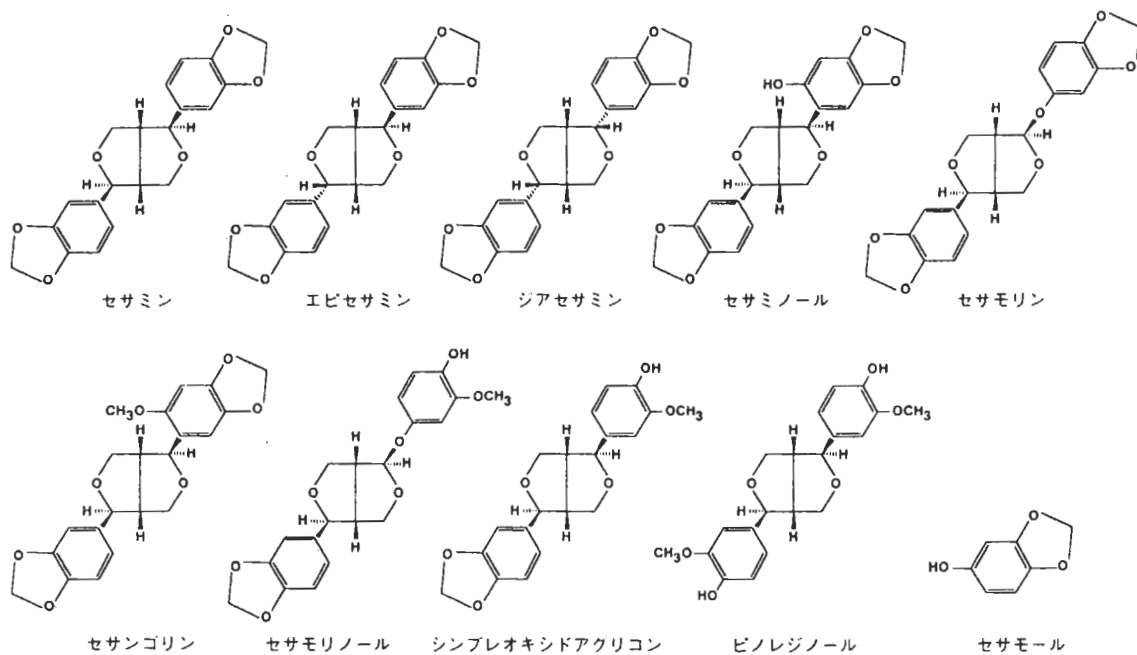


図1 ゴマ種子あるいはゴマ油に含まれるリグナン類

含まれていることが知られており、これがゴマ油を他の種子油脂から区別する一つの際立った特徴であることが明らかにされている。しかし、これらリグナン類の生理活性に関しては、i) ゴマ油の酸化的劣化に対する高い安定性がセサモールやトコフェロールの抗酸化力によるものであることが古くから知られていたこと^{2),3)}, ii) 並木・大澤らのグループにより、新規な抗酸化物質(セサミノール, 図1参照)が見いだされたこと^{4),5)}, iii) セサミンがピレトリン系農薬の協力剤として作用することが明らかにされているにすぎず、ゴマの効能の生化学的な裏付けは、全体として十分解明されていなかった。特に、ゴマリグナンの中でも最も多量に存在するセサミンについては、*in vitro*では抗酸化活性を示さないため、栄養学的ないしは生理学的興味もたれていなかった。著者らは、微生物による高度不飽和脂肪酸の生産に関する研究の過程で、ゴマにアラキドン酸やエイコサペンタエン酸の生成を抑制する因子が含まれることを認め、この現象がセサミンによる $\Delta 5$ 不飽和化酵素の特異的阻害に基づくことを明らかにした。本稿では、セサミンのアルコール代謝の促進および解毒活性の亢進について、さらに、従来は抗酸化活性を示さないといわれていたセサミンも生体内では抗酸化作用を発現することについて、これまでの研究経過の概略を紹介する。

2. セサミンの生理活性

最近、ゴマ種子やゴマ油に含まれるリグナン類、とくにセサミンのもつ多様な生理活性が明らかになってきている。ゴマリグナンの生理活性として、(a)リノール酸代謝における $\Delta 5$ 不飽和化酵素反応の阻害によるジホモ- γ -リノレン酸の蓄積および1シリーズエイコサノイド産生の亢進^{6),7)}, (b)小腸からのコレステロールの吸収抑制および肝臓でのコレステロール合成阻害(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductaseに対する阻害)による血清コレステロール降下作用^{8),9)}, (c)アルコール代謝の促進および解毒活性の亢進^{10),11)}, (d)化学発癌剤(7,12-dimethylbenz[a]anthracene)によるラット乳癌発症抑制作用¹²⁾, (e)生体内抗酸化活性^{12),13)}, (f)免疫賦活化作用¹²⁾, および, (g)抗高血圧作用^{14),15)}が明らかにされている。これらの知見のうち, (c)(e)について紹介する。

3. 肝機能保護作用およびアルコール代謝の促進

著者らはセサミンがリノール酸代謝におけるジホモ- γ -リノレン酸からアラキドン酸の変換を司る $\Delta 5$ 不飽和化酵素を阻害することを見出した^{6),7)}。このことから、セサミンは $\Delta 5$ 不飽和化酵素の阻害を介して、個々のエイコサノイドの産生に影響することが予想された。そこで、セサミン添加飼料で飼育したラットの血漿中のプロスタグランジン(PG)E₂濃度を調べると、コントロール群に比して明らかに低下傾向が認められた¹²⁾。この結果は、セサミンによるPGE₁レベルの上昇およびPGE₂レベルの低下が、様々な代謝変化を誘起する可能性を示唆している。例えば、PGE₁にはアルコール性肝障害を改善する作用があることが知られており、セサミンが $\Delta 5$ 不飽和化酵素の特異的阻害を介して、アルコール性肝障害の改善に何らかの効果があるものと期待できる。「酒は百薬の長」といわれているように、アルコールはストレスの解消、疲労の回復、気分の転換など種々の利点がある一方、過剰摂取による問題もある。著者らは、過剰飲酒に対してあるいは肝機能の保護や改善という観点から、セサミンがどのような効果を示すか調べることにした。まず、マウスを用いたエタノール連続吸引による肝障害モデルで実験を行った¹⁰⁾。CDF1マウス(雄, 9週令)を3群に分け、1群は普通食で6日間飼育し、残り2群はエタノールチャンバー(12ppm)内で6日間飼育し、エタノール連続吸引による肝障害および脂肪肝を誘起した(内1群は1%セサミン強化飼料)。6日後に、血清分析、組織病理学的検索により肝機能に与えるセサミンの効果を評価した。

表1 エタノール連続吸引を受けたマウスの血清成分, 脂肪形成におよぼすセサミンの効果

グループ	T-CHO (mg/dl)	TG (mg/dl)	T-BIL (mg/dl)	GOT活性 (IU/L)	GPT活性 (IU/L)	肝臓組織中の脂肪滴
コントロール	91.6± 8.8	58.6± 12.1	0.47±0.15	149.7± 76.3	26.1± 7.8	1.0
エタノール	100.9±10.2	237.3±124.2**	1.61±1.32*	312.4±203.8*	39.6±31.9	3.5
エタノール +セサミン	89.4± 8.5	83.0± 19.0**	0.41±0.04*	81.6± 15.4**	18.3± 1.6*	1.8

平均±SD (n=7), *p<0.05, **p<0.01vs. コントロール群, *p<0.05, **p<0.01vs. エタノール群
T-CHO, 総コレステロール; TG, トリグリセライド; T-BIL, 総ビリルビン; GOT, グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ; GPT, グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ
脂肪滴の判定は中心静脈及びグリソン氏鞘周辺で6段階(1=全く認めない, 2, 2.5, 3, 3.5, 4=多量に認める)で評価した。

表1の結果に示すように, エタノール連続吸引により上昇した血中のトランスアミナーゼ活性(GOT, GPT), トリグリセライドおよびビリルビン濃度は著しく上昇し, 肝機能障害が起きていることが確認されたが, セサミンを投与したグループでは, エタノールを連続吸引しているにもかかわらず, これらの値はコントロールと同等あるいはそれ以下の低値となることが明らかとなった。さらに, エタノール連続吸引による脂肪肝の形成もセサミン投与グループでは有意に抑制されることも判明した。同様の効果は四塩化炭素で誘起した急性肝障害に対しても認められた。

このような結果から, セサミンはアルコール解毒に対し有効効果を発揮するのではないかと考えられた。そこで, 飲酒後の血中アルコールの消失速度に対するセサミンの効果を評価した。ウイスター系ラット(雄, 4週令)を2群に分け, 1群は普通食で, 残り1群は0.5%セサミン強化飼料で16日間飼育した。20%エタノール(1g/Kg)の経口投与後の血中アルコール濃度を測定すると, 図2の結果が示すように, セサミン投与群のエタノール消失速度はコントロールと比較して著しく大きいことが見いだされた。

生体内に吸収されたアルコールの90%以上は, 肝臓での酸化反応により代謝される。図3にアルコールの主要な代謝過程を示す。一般に血中に高濃度で存在するアセトアルデヒドは顔面紅潮(フラッシング)の原因とされている。このアセトアルデヒドの酢酸への変換に関与するアルデヒド脱

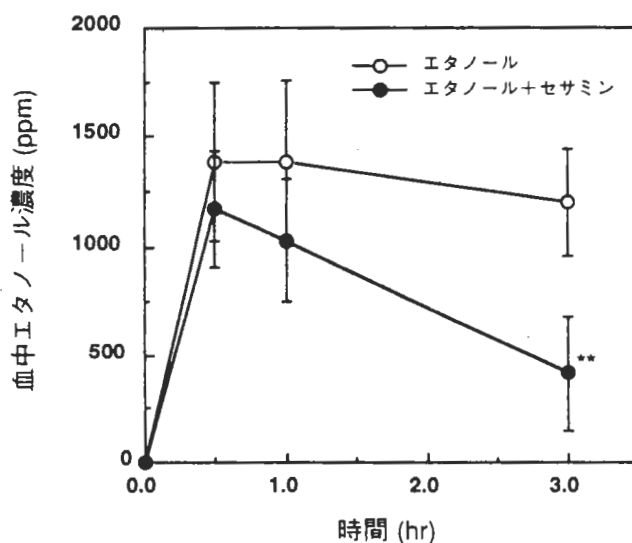


図2 ラット血中エタノール濃度の経時変化
平均±SD (n=4-6), **エタノール群に対して有意差あり, p<0.01

水素酵素(ALDH)には2種のアイソザイムが存在し, ALDH1は, 高濃度アセトアルデヒドに作用し, ALDH2は低濃度アセトアルデヒドでも作用する。日本人の約50%はALDH2を欠損しており, 飲酒時の顔面紅潮などのアセトアルデヒドの急性中毒症状が出易く, また酒の弱い人ということになる。

これらのことから, ヒトで過剰飲酒時の動悸, 顔面紅潮, 嘔吐といった悪酔症状に対するセサミンの効果をサーモグラフィーによる顔面の表面温度を酔いの程度の指標として評価した¹¹⁾。健全な男性被験者(ALDH2欠損型)に対してチョコレートの形でセサミン(100mg/日, 7日間)を投与するものとプラセボ(セサミンを含まないチョコレート)との間の2回の測定と比較した。アルコール

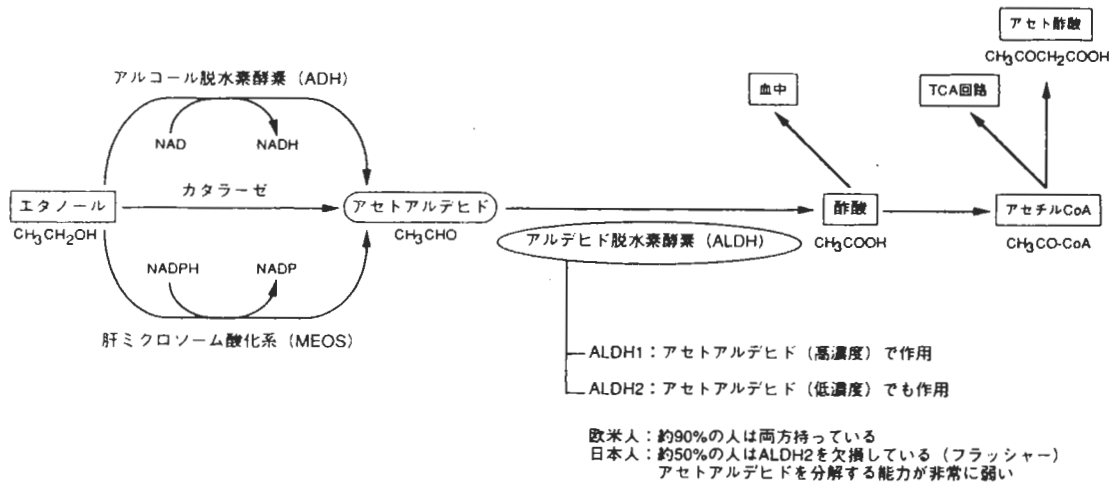


図3 生体内におけるアルコールの主要な代謝過程

はウイスキーをストレートで各人の限界量（平均60ml）飲酒させた。その結果、全被験者の顔面の表面温度は急速に上昇し、約30分でピークに到達し、以後徐々に低下した。しかしながら、セサミンを摂取した被験者の顔の表面温度の低下速度は、プラセボの場合は比べて明らかに速くなった。1例を図4に示したが、この違いはアルコール飲酒後40から55分の間で有意であった。動物実験からの予想より、セサミンはアルコールのピークレベルを下げる傾向を示すこともこの結果に反映するのかもしれない。また、同時に測定した呼吸性心泊間隔変動の結果より、セサミンは飲酒時の副交感神経の活動低下を有意に和らげることが認められた。

その後の検討で、セサミンは飲酒による血中アルコール濃度およびアセトアルデヒド濃度と平行関係にある尿中アルコール濃度およびアセトアルデヒド濃度を速やかに低下させる効果があることも明らかになっている。さらに、先に紹介したセサミンのピレトリン系農薬の協力剤としての作用は、セサミンがピレトリンに対する昆虫の酸化解毒酵素の働きを阻害するためと知られているが、

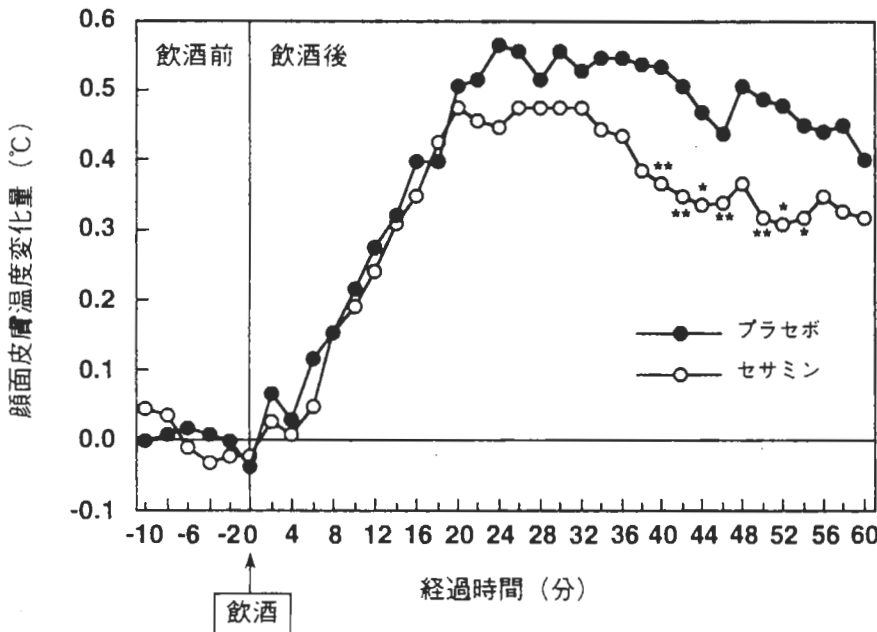


図4 アルコール飲酒前後のヒト顔面（顎および首部）のサーモグラフ 9人の平均値 温度は赤外線カメラで測定した

*、** プラセボ群に対して有意差あり、 $P < 0.10$ および $P < 0.05$

今回の一連の研究で、ラット肝臓のアミノピリン N-メチル脱メチル化酵素およびアニリン加水分解酵素のようなミクロソーム薬物代謝酵素活性（比活性）にセサミンが影響しないこと⁹⁾、さらに、アルコール代謝の促進および解毒活性の亢進が明らかにされたことから、ピレトリン系農薬の協力剤としての作用は、昆虫に特異的であるものと考えられる。

4. 生体内抗酸化活性

食品、特に油脂の使用されている食品は、油脂の酸化劣化から品質を守るために抗酸化剤（例えばトコフェロールなど）の添加が不可欠である。そして、最近では植物由来の新規な天然抗酸化剤の探索研究も精力的に進められている。当然、オレイン酸やリノール酸などの不飽和脂肪酸を多く含んでいるにもかかわらず酸化的劣化に対して安定なゴマおよびゴマ油についても研究され、従来から知られていたセサモールやトコフェロール以外に様々な抗酸化物質が存在することが示された（並木・大澤らのグループは生絞りゴマ油（サラダ油）製造の精製過程でセサモリンの転移反応によって生じる強い抗酸化活性を示す新規物質を単離し、セサミノールと命名している（図1）^{4,5)}、また栗山・無類井らのグループはセサミノールをアグリコンとする配糖体（セサミノール配糖体）などの数種のリグナン配糖体の存在を確認している¹⁶⁻¹⁸⁾）。しかし、ゴマリグナンの中でも最も多量に存在するセサミンについては、*in vitro*で抗酸化活性を示さないため抗酸化活性はないものと思われていた。

化学発癌剤は、組織特異的な癌を誘発するの広く使われている。このような化合物は、肝臓ミクロソームの酵素系により活性化された後、発癌活性を発現する。そこで、7,12-dimethylbenz[a]anthraceneで誘発したラット乳癌に対するセサミンの評価を実施したところ、0.2%の混合飼料で、コントロールと比べてセサミンは明らかに、乳癌の平均数および触診癌の累積数を低下させた。また、セサミンが血漿、肝臓脂質の過酸化脂質を低下させるという生体内抗酸化活性を見出した（表2）¹²⁾。

そこで、セサミンの有機ラジカル、superoxide、OHラジカルの消去活性について検討した。有機ラジカル（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazal(DPPH)）の消去活性はDPPHの吸光度（516nm）の減少で、superoxideの消去活性はPMS（phenazine methosulfate）+NADHの反応で生ずるsuperoxideのNBT（nitro blue tetrazolium）還元に伴う吸光度（560nm）の増加に対する阻害で、OHラジカルの消去活性はNADPH依存型ミクロソーム脂質過酸化系で生じるTBA（thiobarbituric acid）反応物の増加に対する阻害で評価した。その結果、セサミンは有機ラジカルやsuperoxideに対する反応性は認められなかったが、活性酸素の中でも最も短命で反応性が高く、それを除去する酵素系が生体内に存在しないため最も危険とされるOHラジカルの特異的な消去活性が認められた（図5）¹³⁾。また、セサミンは肝臓ミクロソーム中でメチレンジオキシ基の一方のみが反応を受けた2-(3,4-methylenedioxyphenyl)-6-(3,4-dihydroxyphenyl)-cis-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octaneに変換されることも判明しており、この変換化合物が水酸基を有することから生体内で強い抗酸化活性を発現することが可能で、生体内抗酸化活性のメカニズムのひとつの可能性を示した。

表2 組織過酸化脂質濃度におよぼすセサミンの影響

グループ	n	組織	肝臓	腫瘍
		血液 nmol MDA/ml	nmol MDA/g肝臓	nmol MDA/g腫瘍
コントロール	6	9.94 ± 1.68 ^a	577 ± 24 ^a	207 ± 14 ^a
コントロール + sesamin	6	4.99 ± 0.49 ^b	484 ± 27 ^b	150 ± 10 ^b

平均 ± SE, MDA: malondialdehyde, a,b異なる文字を付けた数値間にp < 0.05で有意差あり

5. おわりに

限られた知見ではあるが、ゴマセサミンのユニークな作用、特にアルコール代謝の促進および解毒活性の亢進、生体内抗酸化活性を中心に筆者らの研究を紹介した。△5不飽和化酵素の特異的阻害作用の発見に基づいて、

プロスタグランジン類のレベルの変動、過剰飲酒

による肝機能低下の改善へと研究を進めてきたが、互いの現象を結びつけるには、論理に飛躍もある。これらセサミンによって引き起こされる各現象がどの程度まで互いに関連性を持っているかについては、今後の詳細な検討を待つ必要があるように思われる。また、ラットの血清コレステロール降下実験において、セサミン添加飼料に α -トコフェロール（そのものは血清コレステロール降下作用を持たない）をさらに添加することで、セサミンのもつ血清コレステロール降下作用を有意に高めることが見いだされている¹⁹⁾。また逆に、セサミンが生体内のトコフェロール量を増加させることも見いだされてきており²⁰⁾、セサミンとトコフェロールの併用作用という今まであまり考えなかった現象も明らかにされてきている。セサミンは今回紹介した以外に数多くの生理活性が見いだされており、その多機能性は、古来から言われてきた健康に対するゴマの多用な作用を理解する足掛かりになるかも知れない。現時点での知見は、氷山の一角に過ぎないかもしれないが、多方面からのさらなる検討が待たれるところである。

謝 辞

本稿で引用した著者らの研究は、京都大学農学部、サントリー(株)、九州大学農学部、大阪薬科大学の方々による共同研究であり、ご指導いただきました、京都大学名誉教授山田秀明先生（現富山県立大学教授）、九州大学教授菅野道廣先生、大阪薬科大学教授森本史郎先生、助教授松村靖夫先生および共同研究者の方々に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 並木満夫, 小林貞作編, “ゴマの科学”, 浅倉書店, p168-189 (1989).
- 2) Budowski, P., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 280 (1964).
- 3) MacRae, W. D. and Touers, G. H. N., *Phytochemistry*, **23**, 1207 (1984).
- 4) Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T. and Namiki, M., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 1072 (1986).
- 5) Osawa, T., Nagata, M., Namiki, M. and Fukuda, Y., *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3351 (1985).
- 6) Shimizu, S., Akimoto, K., Kawashima, H., Shinmen, Y. and Yamada, H., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 237 (1989).

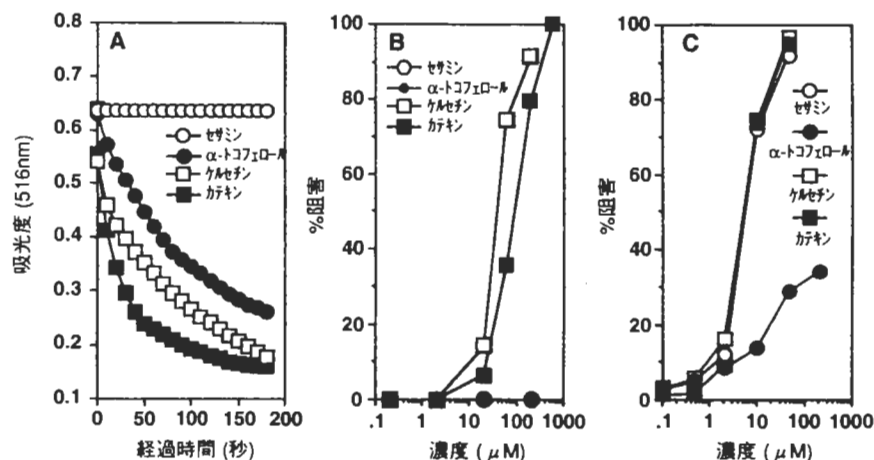


図5 DPPH(A), superoxide(B), OHラジカル(C)の消去に対するセサミン, α -トコフェロール, ケルセチン, カテキンの効果

- 7) Shimizu, S., Akimoto, K., Shinmen, Y., Kawashima, H., Sugano, M. and Yamada, H., *Lipids*, **29**, 512 (1991).
- 8) Sugano, M., Inoue, T., Koba, K., Yoshida, K., Hirose, N., Shinmen, Y., Akimoto, K. and Amachi, T., *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2669 (1990).
- 9) Hirose, N., Inoue, T., Nishihara, K., Sugano, M., Akimoto, K., Shimizu, S. and Yamada, H., *J. Lipid Res.*, **32**, 629 (1991).
- 10) Akimoto, K., Kitagawa, Y., Akamatsu, T., Hirose, N., Sugano, M., Shimizu, S. and Yamada, H., *Ann. Nutr. Metab.*, **37**, 218 (1993).
- 11) 中村美幸, 永井, 元, 中川 正, 菅野道廣, 第45回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, p 168 (1991).
- 12) Hirose, N., Doi, F., Ueki, T., Akazawa, K., Chijiwa, K., Sugano, M., Akimoto, K., Shimizu, S. and Yamada, H., *Anticancer Res.*, **12**, 1259 (1992).
- 13) 浅見純生, 秋元健吾, 阿部圭一, 赤松 剛, 小西恭子, 清水 昌, 菅野道廣, 山田秀明, 日本農芸化学会誌, **67**, 501(1993).
- 14) Matsumura, Y., Kita, S., Morimoto, S., Akimoto, K., Furuya, M., Oka, N. and Tanaka, T., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1016 (1995).
- 15) Kita, S., Matsumura, Y., Morimoto, S., Akimoto, K., Furuya, M., Oka, N. and Tanaka, T., *Biol. Pharma. Bull.*, **18**, 1283 (1995).
- 16) 栗山健一, 土屋欣也, 無類井建夫, 日本農芸化学会誌, **69**, 685 (1995).
- 17) 栗山健一, 無類井建夫, 日本農芸化学会誌, **69**, 703 (1995).
- 18) 栗山健一, 無類井建夫, 日本農芸化学会誌, **70**, 161 (1996).
- 19) Nakabayashi, A., Kitagawa, Y., Suwa, Y., Akimoto, K., Asami, S., Shimizu, S., Hirose, N., Sugano, M. and Yamada, H., *Intenal. J. Vit. Nutr. Res.*, **65**, 162 (1995).
- 20) Yamashita, K., Nohara, Y., Katayama, K. and Namiki, M., *J. Nutr.*, **122**, 2440 (1992).

くらしに役立つ 微生物の話



京都大学農学部教授 清水 昌

学習だより(冬), 社団法人日本理容美容教育センター, 120, 26-29 (1999)

I 微生物に優しい日本人

京都市の北東、比叡山の麓に曼殊院という小さなお寺があります。近くに詩仙堂や修学院離宮があり、新緑や紅葉の季節になると、これを楽しむ訪問者でにぎわいます。観光ガイドには必ず載っている所で、訪ねられた人も多いのではないのでしょうか。しかし、お寺の外庭の一隅に菌塚があるのを知っている人は少ないと思います。私たちのくらしを豊かにするために犠牲になった微生物たち、すなわち、この世で一番小さな無数の命に感謝とお礼の気持ちを込めて造られたものです。ハサミや包丁、釘などの供養と同じように、物言わぬ者たちに対する日本人の優しい心情の表われの一つかと思えます。ここでは、私たちのくらしを支えるミクロの働き者についてその素顔を紹介してみたいと思います。

微生物というとどんな事が思い浮かぶでしょうか。不潔なもの、病気を引き起こす

恐ろしいもの、といったところが、一般的なイメージでしょうか。数年前のO-157による食中毒事件などで一層このような悪者のイメージが定着したのではないのでしょうか。でもちょっと待って下さい。私たちが気が付いていないところで役立っているミクロの働き者も意外と多いのです。酒、味噌、パン、納豆などが微生物の働きでつくられる食品であることはよくご存知のことと思います。秋の味覚の王様である松茸をはじめとして八百屋さんの店先に並ぶ様々なキノコも実は微生物の仲間です。いったら、イメージはぐっと良くなったのではないのでしょうか。このように、私達は微生物に対して相反する二つのイメージを持っているわけですが、実は、微生物の研究も昔からこの二つのイメージに密着して発展してきたのです。すなわち、「如何にして微生物を殺すか」という研究と「如何にして微生物と仲良くするか」という研究です。前者は医学の領域から生まれた微生物

物学で、後者は農学から生まれた微生物学です。日本には世界に例のないほど様々な伝統的発酵食品^{はっこう}がありますし、また、先ほどの菌塚の話からもわかりますように、日本人は昔から大変上手に微生物と付き合ってきました。従って、微生物を扱う技術も自然と高度なものが身につけていました。もともとこのような基盤があった所に、明治時代になって医学の領域の微生物学が西洋から輸入されました。両者がほど良くミックスされて、日本の微生物利用に関する分野は学問的にも産業的にも大発展を遂げるのです。現在、日本がバイオテクノロジー、特に微生物バイオの分野では最先進国の一つであるのもこのようなところにそのルーツの一つがあるのです。

Ⅱ 日本は微生物の宝庫

日本は資源に乏しい国だといわれています。しかし、微生物に関しては世界に冠たる資源大国であるのご存知でしょうか。

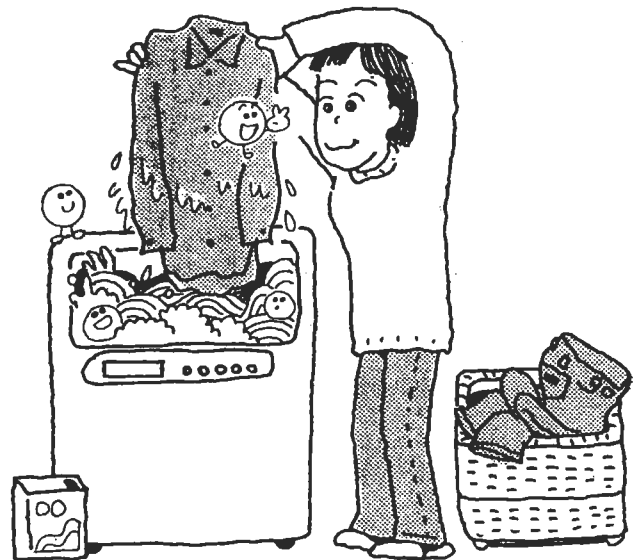
このことも、日本がバイオ大国でいられる要因の一つになっているのです。一グラムの土の中には普通一千万から一億の微生物がいるといわれています。日本は国土が南北に細長く、山あり河あり地形も変化に富んでいます。それに四季の移り変わりもあります。つまり、変化に富んだ自然があるわけです。従って、生息する微生物も多種多様で、それらは四季の変化に応じて刻々と変化します。これを砂漠の土と比較すれば、同じ一グラム中に同じ数の微生物がいると仮定しても、その豊かさが全くちがうことは容易に理解できるでしょう。数と種類が多いということは、私たちが探しさえすれば、優れた能力や未知の能力を持っている微生物と出合う可能性がきわめて高いということになります。微生物の能力といってもイメージが湧かないと思いますが、例えば、プラスチックを食べる菌とか石油を食べる菌なども、その事自体がユニークな能力の一つであります。また、O-157が

きわめて強力な毒素を作り出すということも、われわれ人間にとっては困ったことですが、ある種のユニークな能力といえるでしょう。具体的な例は後で述べますが、このような微生物のユニークな能力は、偶然に見つかることもあるのですが、多くの場合、熱心な探索を通して発見されてきたのです。

Ⅲ 身近かで活躍するミクロの働き者

洗濯用の洗剤のコマーシャルで「酵素が効く」などという宣伝文句をよく耳にします。この「酵素」たるものは、実は微生物の生産物であることは御存知でしょうか。タンパク質を分解する酵素、油を分解する酵素、セルロースを分解する酵素が洗剤に混ぜられています。それぞれがタンパク性の汚れ、油汚れ、衣服の毛玉を取り除く働きを担^たって洗剤の作用を助けています。従って以前のように多量の洗剤を使わなくても効率よく洗濯ができるようになりまし

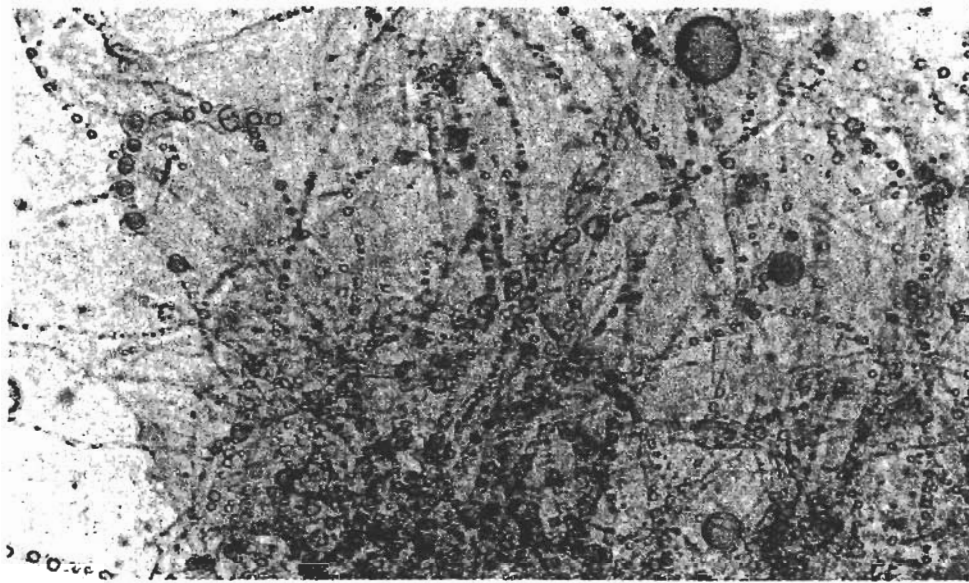
た。このことは、間接的に洗剤による環境汚染を軽くすることにも大変役立っています。最近、洗剤用の酵素に新しい仲間が加わりつつあります。それはキノコが生産する酵素で、色素を分解することができます。これを洗剤に加えますと、洗濯中に起こる色移りを防ぐことができます。赤色の服と白色の服を一緒に洗って白の服に色が移って大切な服を台無しにした経験はありませんか。しかし、これからは大丈夫。洗濯中に溶けだした色素は色移りする前に、この酵素によってことごとく分解されてしまうのです。これらの洗剤用酵素を効率よく生産できる能力の高い微生物も、根気強い探索によって見いだされたものであることはいうまでもありません。細かな生産条件が設定され、工場の巨大な培養タンクで大量生産が行われています。洗髪用のシャンプーにも微生物の行う反応で作られられる物質が入っています。保湿剤として使われるパントテン酸と栄養剤として使われるシ



ステインです。パントテン酸はビタミンの一種で医薬品や飼料添加物としても使用されています。従来、化学合成法で製造されてきましたが、カビの一種が行う反応を利用してききましたが、カビの一種が行う反応を利用することにより簡単に作れることが最近明らかになりました。システインは毛髪から抽出して作っていましたが、化学合成した出発原料に細菌を作用させてシステインに変換する方法が開発されています。いずれの場合も製造法の変換によって、製造コ

ストの低減のみにとどまらず、製造プロセス自体がクリーンになり、環境に対する負荷が著しく軽くなったことも注目すべきことです。

医薬品の製造にも様々な微生物や微生物の行う反応が利用されています。糖尿病の治療薬のインシュリンも今では微生物によって作られています。本来、微生物がインシュリンを作ることはあり得ないことなのですが、遺伝子組換え技術を使って、ヒトのインシュリンを作る遺伝子を酵母や大腸菌に入れることで、培養タンクの中で大量生産されています。このような技術が確立するまでは、少し構造が異なるブタのインシュリンが代用品として使用されていました。この技術革新は、ブタにとっては幸運なことでありましたが、作る必要のないものまで作らされるはめになった微生物の方は気の毒としかいいようがありません。パーキンソン病の治療薬ドーパ、血圧降下剤メバロチン、様々な抗生物質など、微生



物によって作り出される医薬品の例を挙げるときりがありません。

他にも、アミノ酸から石油化学の基幹物質に至る様々な物質の合成を変換、醸造食品の生産、食品加工や計測に必要な酵素類の生産、廃液浄化などの環境保全にと、様々なところで多種多様な微生物が活躍しています。

Ⅳ 油を作るカビ

私たちの研究室の仕事の一つに、微生物に油を作らせてみようという研究があります。油といっても食べられる方の油です。先に述べた探索によって大学のキャンパスの土の中からユニークなカビが見つかりました。毛カビの一種で、このカビに餌として糖質を与えて生育させますと、これをせつせと油脂に変換して、菌の体内に大量に蓄えます。その蓄積量は、菌体一グラム当り〇・七グラムにも達します。つまり体の七〇％が油できているわけです。超肥

満のカビです。顕微鏡で見ると、写真のように、油滴が細胞の中にびっしり詰まっているのがわかります。この油には、アラキドン酸などの高度不飽和脂肪酸と呼ばれる脂肪酸が大量に含まれています。大豆やトウモロコシなど油糧植物では作れないユニークなもので、乳幼児や高齢者の補助栄養食品として利用価値の高いものです。このようにして得られる油脂は、従来の動植物由来の油脂と区別して「発酵油脂」と呼ばれ、工業的なレベルでの大量生産が可能になっています。このカビが見つかるまでは、微生物がこのようなユニークな油を作ることには知られていませんでした。現在、培養条件を工夫したり、変異株を用いることで、これまで作ることが困難であった様々な種類の「発酵油脂」が培養タンクという畑で大量生産できるようになっています。これからもこのような微生物の驚くべき能力が次々と発見されていくことと思います。