

海洋生物由来脂溶性素材による生活習慣病の予防

北海道大学大学院水産科学研究科 宮下和夫

1. はじめに：

脂質はタンパク質や炭水化物と共に3大栄養素の一つに数えられており、我々が生きていく上で必要不可欠な成分である。生体脂質の主要成分としては、トリアシルグリセロール(TG；中性脂肪)、リン脂質、コレステロールなどが挙げられ、それぞれ生体を構成する重要な要素である。TGは主としてエネルギーの貯蔵物質の役目を担い、TG中の脂肪酸の酸化により効率的にATPが産生される。また、皮下に蓄積した中性脂肪は、外界の衝撃から人体を防御する機能も有する。一方、リン脂質やコレステロールは細胞膜の主要成分であり、特にリン脂質は膜の構造を維持するのに不可欠な構成要素である。リン脂質には、分子内に不飽和結合を複数有する高度不飽和脂肪酸(PUFA)が含まれており、これらの脂肪酸は単にエネルギー源として重要なだけでなく、様々な生体機能も有する。例えば、リノール酸(18:2n-6)、アラキドン酸(20:4n-6)、ドコサヘキサエン酸(DHA；22:6n-3)などのPUFAは、生体を正常に維持する上で必須な成分であり、我々はこれらの必須脂肪酸を食品から日常摂取している。

上記の必須脂肪酸の内、リノール酸は食用油から、アラキドン酸は畜肉などから、また、DHAは水産物などから得ることができるが、最近の食生活の変化により、特に若年層を中心にDHAを摂取する機会は減ってきているように思う。DHA及びDHAと同様水産脂質に多く含まれるエイコサペンタエン酸(EPA；20:5n-3)は、動脈硬化、高血圧、癌といった生活習慣病予防に効果的であることが知られている¹⁾(表-1)。また、DHAはヒトなどの脳に特異的に多く含まれており、脳の機能あるいは精神活動にも大きな影響を及ぼすことも認められている²⁾。DHAやEPAに関する研究は、20年以上も前から行われているが、欧米などでは魚食に対する馴染みのなさが原因となって当初それほど関心は持たれていなかったように思う。しかし、DHAやEPAの重要性が認識されるようになり、欧米においてもその利用がようやく積極的に行われるようになった。我が国のように水産物をそのまま口にするだけで水産脂質を摂取できる習慣があれば、DHAやEPAを含む食品をことさら開発する必要はないかもしれない。しかし、欧米、あるいは、我が国においても、最近の食の多様化と食生活の変化を鑑みれば、食品素材あるいはサプリメントとしての水産脂質の利用が今後さらに必要となる可能性は高い。

そこで、本講演では、水産脂質について私たちの研究室で得られた最近の話題を紹介する。

2. DHAやEPAを含む魚油(イワシ油)の新規抽出法とその栄養機能：

魚油中に多く含まれるDHAやEPAなどの多価不飽和脂肪酸は、制ガン作用、抗動脈硬化作用、抗血圧作用、脳機能維持作用等の特徴的な生理作用を有することが報告されており、各分野へのこれら機能性脂肪酸の利用が積極的に図られている³⁾。したがって、水産物からのDHAやEPAのより効率的かつ経済的な分離・回収システムの開発が常に望

まれている。DHAやEPAの主たる供給源は、イワシ、カツオ、マグロなどの魚油であり、これらの魚油は煮取り法と呼ばれる工程を経て魚体各部から工業的に製造されている⁴⁾。例えば、フィッシュミールの生産工程でも魚油が得られるが、この場合、蒸煮した原料を圧搾し、生じた油分を低速遠心分離機と高速遠心分離機に供することで採油を行っている⁵⁾。しかし、多くの場合、水産食品製造時に排出される残滓はDHAやEPAなどの油脂を多量に含んでいるにもかかわらずほとんど利用されることはない。油脂含有廃棄物は水質汚濁の原因ともなり、これら廃棄物からの油脂の効率的回収法の確立が求められる。

ところで、魚油の製造は通常、上記のような煮取り法と呼ばれる手法が用いられるが、こうして得られた魚油は暗黒色の粘性の高い液体であり、これをそのまま食用に供することはできず、デガミング、アルカリ処理（脱酸）、脱水、脱色、脱臭などの精製工程を経た後に食品等に利用されることになる。しかし、こうした精製工程中には化学的処理や高温（通常 260℃以上）のため、含まれる機能性成分（DHAやEPA）の異性化、重合などの起こることが予想される。異性体の生成は魚油の栄養価の低下をも引き起こすことが考えられる。そこで我々は、加熱処理や化学的処理工程を伴わない新しい魚油の製造法を開発した。この方法はイワシすり身製造時に排出される廃液を遠心分離することによりイワシ油を得るというものである⁶⁾。すり身製造は我が国における伝統的な水産加工業であり、こうした主要水産加工分野での加工残滓の有効活用に関する検討は極めて重要な課題である⁷⁾。すり身加工では、すり身排液と骨・皮などの残滓が主として排出されるが、特にすり身排液からの有効成分の回収とこれによる排液の浄化は、環境保護の観点からもその積極的な検討が期待されている。そこで、我々はこのすり身排液に着目し、含まれる有効成分の活用を目的して種々の検討を行った。具体的には、すり身排液中に含まれる有用資源として最も重要かつ多量に含まれる魚油に着目し、その効率的な回収法の開発とこれによる排液の水質向上を図った。

その結果、イワシすり身製造の際に排出される水溶液から遠心分離法を用いて魚油を効率的にかつ低温下（10℃以下）で回収できることが分かった。こうして得られた低温抽出イワシ油は、煮取り法によって得られる市販のイワシ油に比べて色も薄く、また粘性や魚臭も少なく、通常必要となる精製工程（脱色・脱臭など）なしに直接食用油脂として利用できることが分かった。ただしこの場合、イワシすり身排液から得られる低温抽出油と市販のイワシ油で、EPAやDHA含量などの脂肪酸組成に大きな違いは見られなかった。そこで、低温抽出イワシ油について、ラット及びマウスの肥満・脂肪代謝に与える影響について市販のイワシ油と比較検討した。その結果、図-1 に示したようにいずれのイワシ油も脂肪組織重量を低下させたが、その傾向は低温抽出油の方が顕著であった。また、総コレステロール含量や中性脂肪含量も両イワシ投与でコントロールに比べて減少したが（図-2）、この場合も低温抽出イワシ油においてその効果はより顕著であった。こうした低温抽出イワシ油の栄養効果の高さの原因については現在のところ不明であるが、市販のイワシ油のような高温処理や化学的処理をしないため、①魚油に含まれるEPAやDHA以外の微量の活性成分が残存している、あるいは、②トランス酸などの不純物が市販のイワシ油に比べて少ないなどの理由が考えられた。いずれにせよ、環境保護、未利用資源の有効利用、高付加価値水産素材の創出といった観点から本法は極めて有用であると思われた。また、我々が開発した魚油回収法は、すり身製造以外の各種の水産加工現場あるいは魚油

製造現場にも大いに活用できるものである。例えば、イカゴロ、ホタテウロ、カツオ節製造時の残滓といった水産廃棄物からの魚油の回収にも本法の応用が可能であろう。この場合、まず、これらの廃棄物を冷凍ブロックとし、粉碎後水に晒す。こうした操作によりタンパク質などを回収する。ついで、得られた晒し水を遠心分離し魚油を得る。こうした工程では油脂が熱にさらされることがないため油脂の酸化あるいはタンパク等との副反応もなく、上質の魚油を得ることが予想できる。今後、上記油脂回収法の様々な分野での応用が期待される。

3. 海藻中の脂質成分とその機能：

海洋生物由来脂溶性活性成分の供給源としては魚の他に海藻が挙げられる。海藻中には魚油には見られない高度不飽和脂肪酸や脂溶性のカロテノイド、ステロールなどが存在しており、その機能性については興味を持たれる。また、ごく最近、海藻中に共役型のアラキドン酸やEPAが見出され^{8,9)}、その生理活性についても、抗腫瘍活性などについて報告がなされている¹⁰⁾。しかし、海藻中の脂質含量はワカメなどの多いものでも3%程度と極めて少量であり、その利用は実際にはこれまで困難と考えられていた。

ところで、海藻中には水溶性の機能性成分としてフコイダンが存在している。このフコイダンは、現在健康食品素材として広く利用されており、その利用の拡大によりフコイダン製造時の残渣も大量に排出されるようになった。我々はこの残渣に着目してその分析を行ったところ、海藻脂質が15%以上の高濃度で濃縮されていることが分かった。また、通常、海藻からの脂質の抽出は、多糖類の存在により困難であることも多いが、フコイダン抽出後の残渣にはこうした多糖類は含まれておらず、ヘキサン等の有機溶剤により残渣中の脂質を容易に回収できることも分かった。

さて、このようにして得られた海藻脂質の生理作用については現在検討中であるが、これまでと異なり大量の海藻脂質が容易に使用できるため、動物実験なども可能となっている。その結果、こうした脂質は、様々な生理作用を示すことが明らかとなってきた。海藻脂質の成分としては糖脂質、リン脂質などの極性脂質の他に、カロテノイドやステロール類も含まれており、その構造は陸上植物のそれとは異なることが知られている。例えば、陸上植物中にはβ-カロテン、ゼアキサンチン、リコペンなどのカロテノイドが栄養機能性成分として知られているが、海藻中には陸上植物には見出されないフコキサンチンというカロテノイドが存在する。我々はこのフコキサンチンの生理作用について特に着目して研究をしており、次にその内容について紹介する。

4. フコキサンチンの生活習慣病予防効果：

フコキサンチンの生理作用として最も良く知られているものにその抗腫瘍活性がある。我々も、白血病細胞や前立腺癌細胞に対するフコキサンチンの増殖抑制作用についてこれまでに報告している^{11,12)}。図-4はワカメから抽出・分画したフコキサンチンの大腸癌細胞に対する増殖抑制作用について示したものである。大腸癌細胞としては、複数(Caco-2, HT-29, DLD1)の細胞を用いたが、7.6μMの濃度でいずれも40%以下に細胞の増殖を抑制した。一方、β-カロテンや海洋動物由来のアスタキサンチンといったカロテノイドではこうした増殖抑制作用は見られなかった。また、DNA断片化の分析などにより、フコキ

サンチン添加により癌細胞のアポトーシスが引き起こされていることも分かった。さらに、このアポトーシスはカスパーゼカスケードと Bcl-2 タンパク質が関与する反応であることも明らかとなった。一方、図-5 に示したように、フコキサンチンは大腸癌細胞中のペルオキシソーム増殖剤応答性レセプター (PPAR) の一種である PPAR γ タンパク質の発現を増大させた。この作用は PPAR γ のリガンドとして知られている薬剤 (トログリタゾン) よりもはるかに強いものであった。この場合、トログリタゾンとフコキサンチンを併用することにより、大腸癌細胞の増殖がそれぞれを単独で添加するよりもより強く抑制された。これらの結果は、フコキサンチンの分子レベルでの挙動を知る上で極めて有用と考えられた。

ところで、トログリタゾンなどの PPAR に対するリガンドは、脂肪細胞に対しても PPAR を介した経路により、そのライフサイクルを制御することが知られている。脂肪細胞は生活習慣病の発症に深く関与すると考えられており、その制御は生活習慣病予防の観点から重要な研究課題となっている。癌細胞で見られたフコキサンチンの分子挙動は、脂肪細胞に対しても何らかの作用を有することを示唆している。また、我々は、腎細胞 (CV1) の PPAR γ に対してフコキサンチンがリガンド活性を有することを認めており、フコキサンチンが PPAR γ を介した脂肪細胞の分化などの制御に深く関わるのではないかと予想した。そこで、3T3-L1 細胞を用い、PPAR γ 結合領域の下流に位置する脂質代謝関連遺伝子 (脂質代謝を促進する aP2 と、インスリン抵抗性の改善につながるとされる LPL) の発現について検討した。その結果、aP2 に対しては PPAR γ のリガンドであるトログリタゾンではコントロールの 2 倍に発現量が増大したのに対し、 β -カロテンでは影響を与えなかった。一方、フコキサンチンでは濃度依存的に aP2 の発現量が増加し、50 μ M の濃度ではコントロールの 4 倍となった。また、LPL 遺伝子についても同様の結果が得られ、 β -カロテンでは変化がなかったのに対し、フコキサンチン (50 μ M) ではコントロールの 5 倍に発現量が増大した。

上記の結果は、フコキサンチンの脂肪細胞に対する PPAR γ を介した制御を示すものであった。そこで、次に、3T3-L1 細胞を用いた脂肪細胞の増殖と脂肪蓄積に対するフコキサンチンの作用について検討した。まず、前駆脂肪細胞の増殖抑制について検討したところ、 β -カロテンではほとんど影響は見られなかったが、フコキサンチン添加により 50 μ M 添加でその増殖抑制が見られた。また、脂肪細胞は分化することにより、細胞内に油脂を溜め込むが、その貯蔵をフコキサンチンのみが顕著に、かつ、濃度依存的に抑制することが示された (図-6)。また、GPDH (グリセロールリン酸脱水酵素) 活性について調べたところ、フコキサンチンでは濃度依存的に酵素活性を抑制することが分かった。これらの結果は、フコキサンチン添加により脂肪細胞の分化が抑制されていることを示すものであり、フコキサンチンの脂肪細胞に対する積極的な関与が示唆された。

以上のように、海藻中のカロテノイドであるフコキサンチンが抗腫瘍活性や抗肥満活性に関与することが示され、その分子メカニズムについても若干の知見が得られた。3. で述べたように、海藻中の脂質含量は低くても、フコイダンの生産に伴う残滓から海藻脂質が比較的容易に得られるため、フコキサンチンを始めとする海藻脂質の利用は今後より活発になるものと思われる。

5. おわりに :

水産物由来の脂溶性機能性成分としては、DHAやEPAが良く知られている。本稿でも、DHAやEPAを多く含むイワシ油の新規抽出法と、そこで得られたイワシ油の高い栄養効果について説明した。また、注目すべき海藻由来の活性成分としてフコキサンチンを紹介した。ただし、これらの脂溶性成分を食品素材として利用する上で留意しなければならない点として、その安定性の低さがある。特にDHAやEPAは極めて酸化されやすく、酸化されると食品の風味の劣化や栄養価の低下が起こるため、効果的な抗酸化法の開発が必要となる。我々はこうしたDHAやEPAに特異的な酸化防止についても研究を行っており、エマルション中などの水系における魚油の酸化安定性の特徴や、水産リン脂質の抗酸化活性などについても興味ある知見を得ている¹³⁾。今後、様々な水産物由来の生理活性物質を食品に利用する上で、その特異的かつ効果的な安定化法の開発は、機能に関する検討と共に特に重要な課題となると考えられる。

6. 文献 :

- 1) 原健次, *EPA-DHAの生化学と応用* (幸書房, 東京), (1996).
- 2) 浜崎智仁, *EPA/DHA : 誰もが必要な栄養素* (メディカルトリビューン, 東京), (2002).
- 3) Li, D., Bode, O., Drummond, H. and Sinclair, A. J., Omega-3(n-3) fatty acids In *Lipids for Functional Foods and Nutraceuticals* (Ed. by Gunstone, F. D.; The Oily Press, Bridgwater, England), pp. 225-262 (2003).
- 4) Bimpo, A. P., Technology of production and industrial utilization of marine oils In *Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils* (Ed. By Ackman, R. G.; CRC Press, Boca Raton, FL, USA), pp. 401-433 (1989).
- 5) Tanikawa, E., Moyohiro, T. and Akiba, M., Fish oil In *Marine Products in Japan* (Koseisha Koseikaku, Tokyo), pp. 445-462 (1985).
- 6) Gwinn, S. E., Development of surimi technology in the United States In *Surimi Tecnology*, (Eds. by Lanier, T. C. and Lee, G. M.; Marcel Dekker, New York, NW, USA) pp. 23-39 (1992).
- 7) Shimizu, Y., Toyohara, H. and Lanier, T. C., In *Surimi Tecnology*, (Eds. by Lanier, T. C. and Lee, G. M.; Marcel Dekker, New York, NW, USA) pp. 181-207 (1992).
- 8) Lopez, A. and Gerwick, W. H., *Lipids*, 22, 190-194 (1987).
- 9) Wise, M. L., Hamberg, M. and Gerwick, W. H., *Biochemistry*, 33 : 15223-15232 (1994).
- 10) Matsumoto, N., Endo, Y., Fujimoto, K., Koike, S. and Matsumoto, W., *Tohoku Journal of Agricultural Research*, 52, 1-12 (2001).
- 11) Hosokawa, M., Wanezaki, S., Miyauchi, K., Kurihara, H., Kohno, H., Kawabata, J., Odashima, S. and Takahashi, K., *Food Sci. Technol. Res.*, 5, 243-246 (1999).
- 12) Kotake-Nara, E., Kushiro, M., Zhang, H., Sugawara, T., Miyashita, K. and Nagao, A., *J. Nutr.*, 131, 3303-3306 (2001).
- 13) 宮下和夫, *New Food Industry*, 44(10), 29-35 (2002).

表-1 魚介類摂取頻度別性・年齢標準化死亡率比

死因	魚介類摂取頻度				P
	毎日	時々	稀	食べぬ	
総死亡	1.00	1.07	1.12	1.32	P<0.001
脳血管疾患	1.00	1.08	1.10	1.10	P<0.001
心臓病	1.00	1.09	1.13	1.24	P<0.001
高血圧症	1.00	1.55	1.89	1.79	P<0.001
肝硬変	1.00	1.21	1.30	1.74	P<0.001
胃癌	1.00	1.04	1.04	1.44	P<0.05
肝臓癌	1.00	1.03	1.16	2.62	P<0.05
子宮頸癌	1.00	1.28	1.71	2.37	P<0.0001
観察人年	1,412,740	2,186,368	203,945	28,943	

日本全国より6府県を選択。40才以上の男122,261名と女142,857名(計 265,118名)について食生活を調査し、1966年から1982年まで17年間の死亡を調査。この間死亡数は男31,979名、女23,544名(計55,523名)

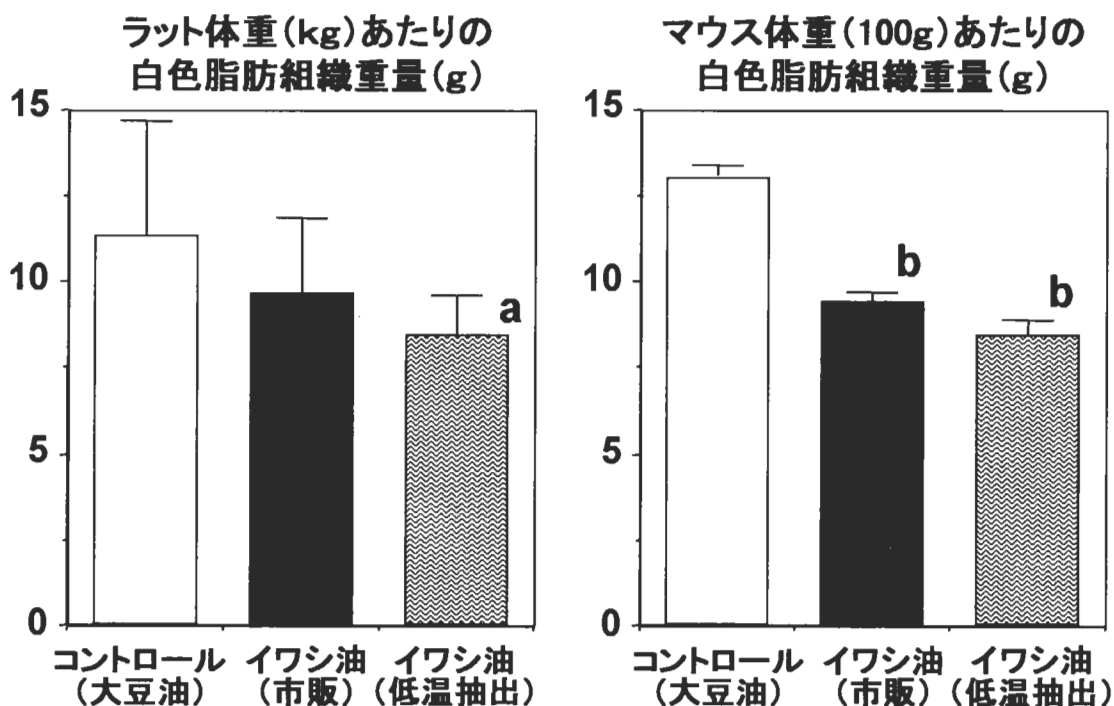


図-1 各種イワシ油の抗肥満効果
(コントロールに対して有意差あり。P<0.05; b:P<0.01)

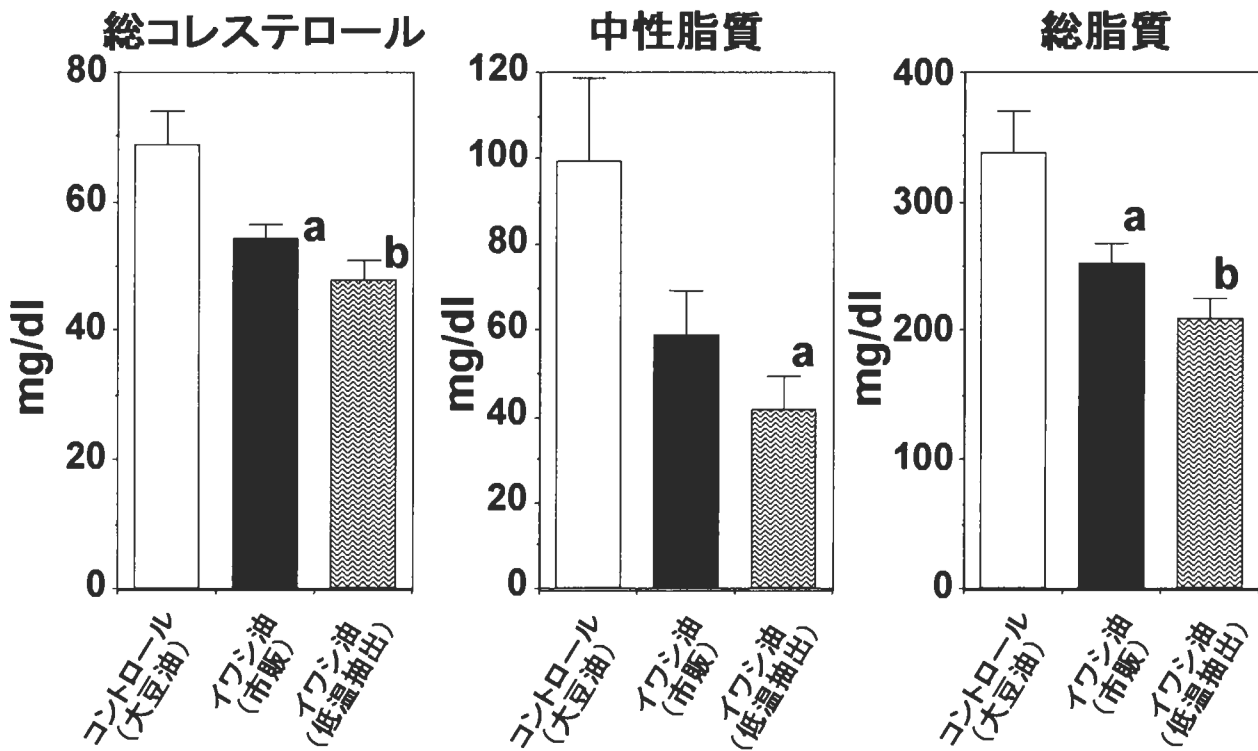
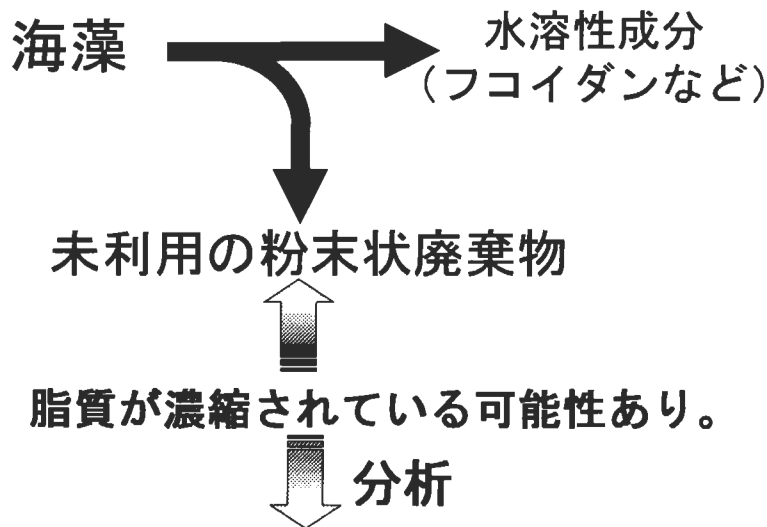


図-2 各種イワシ油のラット血漿脂質に及ぼす効果
(コントロールに対して有意差あり。a:P<0.05; b:P<0.01)



☆海藻中の脂質含量は多くても2%程度でそのままでは動物実験等が困難であったが、上記の廃棄物中には15%程度の脂質が含まれていた。
 ☆フコキサンチンなどのカロテノイドも当然濃縮されており、例えば、ワカメ粉末の場合は550mg/kg含有されていた。

図-3 海藻中の脂質の利用

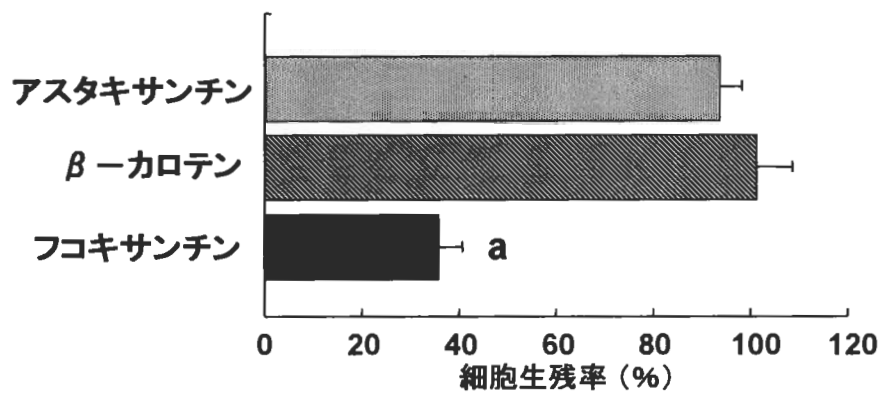


図-4 フコキサンチンの大腸癌細胞に対する作用
(コントロールに対して有意差あり。a:P<0.01)

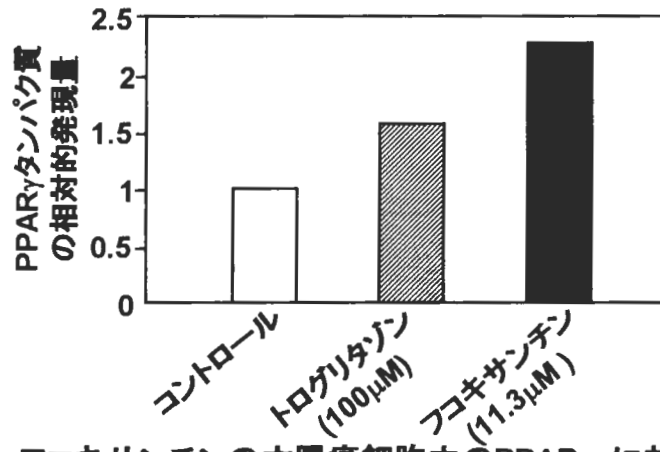


図-5 フコキサンチンの大腸癌細胞中のPPAR γ に対する作用

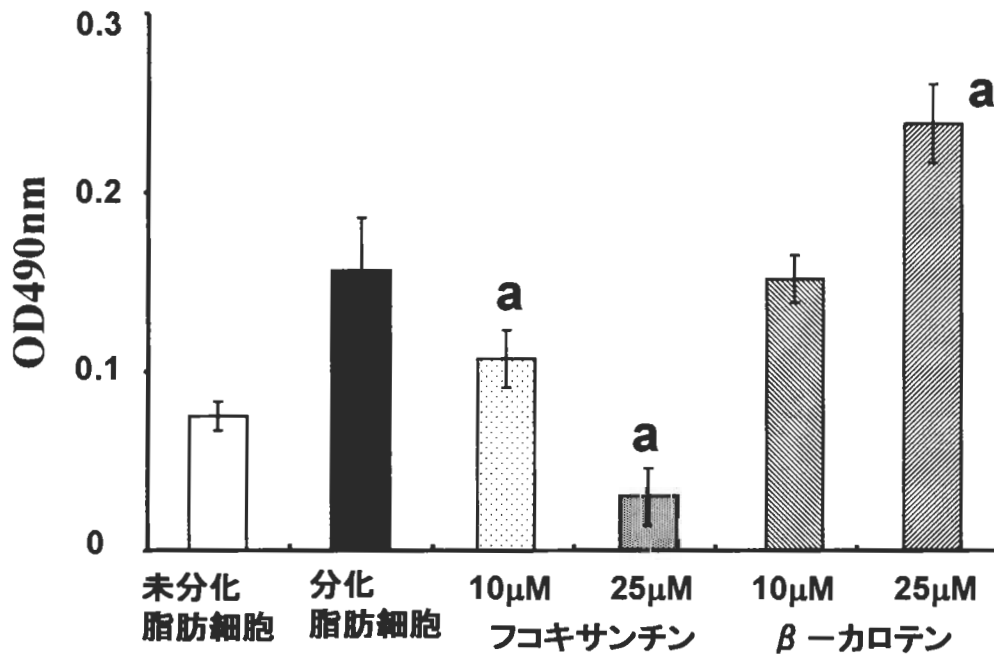


図-6 分化脂肪細胞中の脂肪の蓄積に対する
フコキサンチンの抑制作用

(分化脂肪細胞に対して有意差あり。a:P<0.01)