

《日本農芸化学会功績賞》

食品成分に関する脂質栄養学的研究



九州大学 理事・副学長 今泉勝己

筆者は、食品成分の機能解析を支える脂質・リポタンパク質に関する基礎的研究を展開しつつ、植物性食品や動物性食品等の脂質・リポタンパク質代謝を中心とした生理機能への影響について下記のように研究を進め、これらの健康・疾病予防機能と基本的な体内脂質動態に関する理解を大きく進展させ、脂質栄養学の進展に寄与した。さらに、これらの成果は、健康機能評価系として活用され、機能性食品開発等の応用分野にも道を拓いた。

[I] 食品成分機能解析を支える脂質・リポタンパク質の基礎的研究

(1) 小腸の脂質・リポタンパク質

i) 食事脂肪の輸送にかかわるキロミクロン (CM) の構成アポタンパク質をラット小腸リンパから分離し、それらは、抗体に対する反応性、アミノ酸組成と分子量測定から、血清の極低密度リポタンパク質 (VLDL)、低密度リポタンパク質 (LDL)、高密度リポタンパク質 (HDL) に含まれるアポタンパク質 (アポ A-I, アポ A-II, アポ A-IV, アポ B48, アポ B100, アポ CIII 群) と同じであること、小腸で合成されること、アポ A-IV の合成分泌は食事脂肪によって亢進することなどを明らかにした。さらに、哺乳期の仔ラットと成熟ラットの腸はいずれも食事脂肪をラージ CM として輸送し、その構成アポタンパク質組成は類似しているが、肝臓からの VLDL の分泌には成熟ラットはアポ B100 とアポ B48 を利用するが、仔ラットはアポ B100 のみを利用することを見いだした。ii) 血中へ輸送された CM は CM レムナント (CM-R) への変換を助けるリポタンパク質リパーゼ (LPL) の賦活化剤であるアポ CII や CM-R が肝臓へ取り込まれる際のレセプターのリガンドとして作用するアポ E を血清 HDL からそれぞれ獲得することを見いだした (図)。さらに、LDL レセプター様タンパク質 (LRP)5 は CM-R を認識するレセプターであることが判明した。iii) 肝臓-X レセプター (LXR) α は小腸内腔側に局在している ATP カセット結合タンパク質 (ABC)G5/G8 を介してコレステロール (Cho) の内腔側への放出を促進するとともに、基底膜側で発現している ABCA-I を介してアポ A-I とコレステロール (Cho) から構成される新生 HDL の形成を促進することが指摘されていた。そこで、半永久胸管リンパ管を装着したラットに LXR α リガンドを投与したところ、小腸内腔側と基底膜側でそれぞれ ABCG5/8 と ABCA-I の mRNA の発現が亢進するのに伴い、胸管リンパの低密度のリポタンパク質への総 Cho の分泌が低下することと HDL 画分への Cho とアポ A-I の分泌が亢進する現象をとらえることができた (図)。

(2) 遺伝的背景

i) 1960 年代に SD ラットから分離された食事 Cho に対して容易に高 Cho 血症を呈する (ExHC) ラットは、SD ラットと比較して、糞中への胆汁酸の排泄が少なく、異化が遅いエステル

型 Cho に富みトリグリセリド (TG) が少ない VLDL を分泌し、肝臓の Cho 代謝関連酵素やリポタンパク質レセプターの応答が異なっていた。そこで、ExHC ラットの遺伝的背景について BN ラットとの交配系統を用いて量的形質 (QTL) 解析を行い、第 14 染色体と第 5 染色体上にそれぞれ量的形質座 (Dihc2 と Dihc1) が存在することを見だし、戻し交配を行うことによってさまざまなコンジュニックを作製し候補遺伝子の限局化を図った。その結果、Dihc2 の原因遺伝子としてリン酸化・脱リン酸化にかかわる遺伝子 SMEK2 (suppressor of mek 1) を見いだした。ExHC ラットは SMEK2 遺伝子のコード領域は 10 bp の欠失があったが、調査した他の 7 系統ではそのような変異は見られなかった。なお、ExHC ラットは BN や Ex. Bn-Dich2 コンジュニック系統と比較して肝臓の TG レベルが低かった。ii) HDL-Cho と血清アポ A-I レベルは心疾患と逆相関の関係にある。ExHC ラットはこれらのレベルが低い。そこで、ExHC ラットの血清アポ A-I レベルを制御する遺伝子について QTL 解析を行い、第 3 染色体上に量的形質座 (LOD スコア, 13.6) を見いだした。次に、八つの近交系ラットについて、ラット系統樹および HDL-Cho, 血清アポ A-I レベルと尿中へのアポ A-I 排泄量から三つにグループ化し、ハプロタイプ解析を行った。マーカー遺伝子の導入によって、候補遺伝子の限局化ができ、その一つの遺伝子にミスセンス変異が検出された (イソロイシン→バリン)。

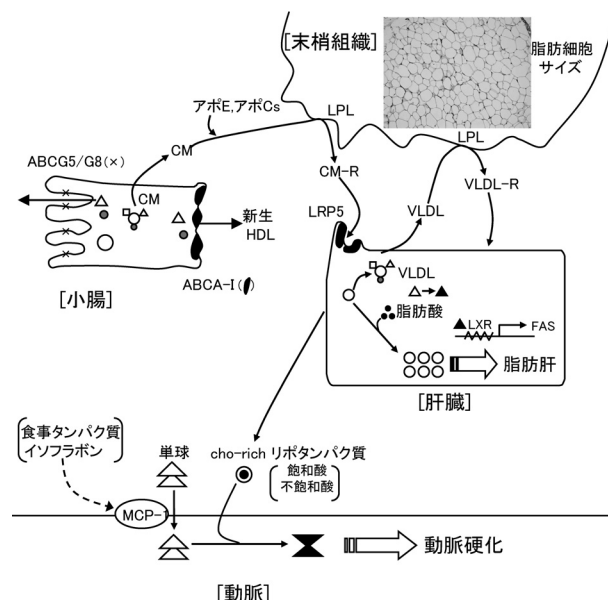


図 血清リポタンパク質と体内脂質動態

△, コレステロール; ●, アポタンパク質; ○, トリアシルグリセロール; ▲, コレステロール酸化物質; ⊕, 単球; ⊗, 泡沫細胞; ⊙, cho-rich リポタンパク質; □, リン脂質; ●, 脂肪酸。

[II] 食品由来脂質の構造と生理機能との関係

(1) 脂肪酸

i) 各種飽和脂肪酸の血清 Cho レベルに対する影響は必ずしも一様ではない。そこで、脂肪酸の位置の影響を排除するためにリノール酸に富むサフラワー油とトリ飽和脂肪酸型 TG (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0) とをランダムエステル交換することによって調製した Structured TG を食事脂肪としてハムスターに給餌し、血清 Cho, 中性・酸性ステロールの排泄量, LDL の異化速度を測定した。その結果、ステアリン酸は他の飽和脂肪酸とは異なった影響を Cho 代謝に及ぼすことを見いだした。ii) 中鎖脂肪酸 (8:0, 10:0) を含む Structured TG の吸収と異化に及ぼす影響について検証するため、中鎖脂肪酸を TG の *sn*-2 位あるいは *sn*-1 (3) 位に配置した Structured TG を半永久胸管リンパ管を装着したラットに給餌した。食事脂肪中の中鎖脂肪酸の位置特異性はリンパ CM-TG 中においても保持されることが明らかとなった。さらに、*sn*-2 位に中鎖脂肪酸を多く含む CM の異化は *sn*-1 (3) 位型のそれと比較して遅延することが見いだされた。

(2) リン脂質

i) ホスファチジルエタノールアミン (PE) を比較的多く含む大豆リン脂質や卵黄リン脂質をラットに給餌した場合、これらリン脂質を含まない食事を給餌した場合と比較して血清 Cho 濃度が低下した。PE の構成塩基であるエタノールアミンやホスファチジルコリン (PC) の塩基交換反応によって調製した PE を含む食事は PC を含む食事と比較して血清 Cho を低下させた。このような PE の作用は、門脈経路で吸収されたエタノールアミンが PE から PC へのメチル化を抑制し、ひいては、VLDL の構成成分である PC 供給量の低下に基づく VLDL の分泌が低下することに起因すると推定された。

(3) ステロールと酸化物

i) Cho や植物ステロール (PS) 酸化物は調理加工食品に恒常的に含まれる。半永久胸管リンパ管を装着したラットを用いて各種ステロール酸化物のリンパへの吸収を調べたところ、Cho 酸化物の吸収率は Cho と比較して低下する傾向にあったが、 β -シトステロールやカンベステロールに由来する酸化物の吸収率はむしろ増加した。Cho および PS 由来酸化物の摂取は、ラットやマウス体内で酵素的に形成される Cho 酸化物 (4 β OH-Cho, 25OH-Cho) の蓄積を増加させた。さらに、Cho 酸化物混合物を 0.02% のレベルでリノール酸に富むサフラワー油あるいは飽和脂肪酸に富むラードとともにラットに給餌した場合には、ラード-Cho 酸化物の組み合わせは肝臓において脂肪肝レベルの脂肪沈着を惹起するとともに、食事および体内合成に基づく Cho 酸化物の沈着が顕著であった (図)。さらに、ラード-Cho 酸化物の組み合わせは脂肪酸合成系の活性化と脂肪酸合成酵素 (FAS) 遺伝子 mRNA レベルならびにステロール応答性因子結合タンパク質 (SREBP)-1C 遺伝子 mRNA レベルを増加させた。そこで、肝臓に沈着した Cho 酸化物によって LXR α が活性化され、それに伴い FAS や SREBP-1C の遺伝子発現量が増加したとの仮説を立て、FAS や SREBP-1C 遺伝子のプロモーター領域を用いた *in vitro* レポーターアッセイ系を構築し、転写活性に及ぼす各種 Cho 酸化物の影響をルシフェラーゼ検定系を用いて評価した。その結果、7 α OH-Cho は FAS のプロモーター領域上の LXR α 活性を増加させ、4 β OH-Cho と

7 β OH-Cho は SREBP-1C プロモーター領域上の LXR α 活性を増加させた。これらの結果から、各種の Cho 酸化物が相乗的に脂質合成系遺伝子の転写活性を増加することで肝臓 TG の蓄積を惹起する可能性が示唆された。したがって、ステロール酸化物の新たな生理作用の解明とともに、安全面での検討も併せて必要である。

[III] 食品成分と動脈硬化の進展との関係

(1) リスクファクターとしての脂質と炎症性因子

日本人の各種動脈の動脈硬化病巣の特徴を科学的に明らかにする調査の過程で、病変の形態学的進展と Cho 沈着量との間に正の相関があることが確認できた。一方、炎症反応も動脈硬化発症における独立した危険因子であることが示唆されている。なお、1980 年代の後半に遺伝子工学的手法によって創出されたアポ E 欠損マウスでは、アポ E が VLDL や LDL などが組織に取り込まれる場合のリガンドであることから、その欠損は重篤な高 Cho 血症を呈し、ひいてはヒトに類似の動脈硬化病変を示す。そこで、このマウスを用いて、高 Cho 血症と炎症因子の一つである単球遊走因子 (MCP-I) の動脈硬化における役割について検討した (図)。なお、アポ E 欠損マウスに MCP-I 発現抑制処理を施した場合には、血清 Cho は高いレベルを維持するものの、動脈硬化の進展が抑制されることが見いだされた。

(2) コレステロール代謝を介して動脈硬化に関係する食品成分

リノール酸に富む食事と飽和脂肪酸に富む食事をアポ E 欠損マウスに 9 週間ほど給餌すると、前者の食事では後者の食事と比較して動脈硬化病変面積は少なかった。このとき、血清 Cho レベルは前者の食事では低いが、生体酸化の指標の一つであるイソプロスタノール類の尿中への排泄量は前者で高かった。一方、リノール酸に富む食事に Cho を添加することによって血清 Cho レベルを増加させた場合にはリノール酸に富む食事の動脈硬化軽減作用は消失した。

(3) コレステロール代謝を介さないで動脈硬化に関係する食品成分

i) 植物性タンパク質である大豆タンパク質、米タンパク質、米のグロブリン画分は動物性タンパク質であるカゼインと比較してラットにおいて血清 Cho 濃度を低下させ、アポ E 欠損マウスにおいては動脈硬化面積を低下させた。後者の場合、血清 Cho の低下はなかった。これら植物性タンパク質はアルギニンに富み、血管弛緩等の作用がある一酸化窒素の血中濃度を増加させた。なお、大豆タンパク質の抗動脈硬化作用はタンパク質に基づき、共存するイソフラボンの作用ではなかった。しかし、卵巣摘出アポ E 欠損マウスでは、イソフラボンは抗動脈硬化作用を示し、その作用の一部は MCP-I の発現抑制に基づいていた。

[IV] 食品成分のヒト脂質栄養へのかかわり

i) クルミの摂取は世界的に健康食であると認められている日本食の良さをさらに向上させることを血清リポタンパク質濃度への影響を調査した日本人被験者を対象とした介入試験により明らかにした。すなわち、男女それぞれ 20 名にクルミを含む食事あるいは含まない食事をクロスオーバーデザインで 4 週間与えたところ、クルミ食で LDL-Cho および LDL-Cho/HDL-Cho は有意に低下した。ii) ヒト型乳酸菌を用いて調製し

た発酵乳製品が脂肪細胞サイズの小型化を介して脂肪組織代謝改善作用を有することを初めて提示した(図)。すなわち、*Lactobacillus gasei*-SBT2055 (LGSP) を用いて調製した発酵乳はスキムミルクと比較してSD系ラットの体脂肪サイズとその重量を減少させた。LGSPは血清レプチン濃度を低下させるとともに、糞中への脂肪酸の排泄量を増加させた。これらの動物実験の結果を受けて、肥満傾向のヒトでLGSP摂取の効果について検討したところ、本発酵乳の摂取によって体重ならびに内臓

と皮下脂肪の減少が見いだされた。

本研究は、主に九州大学農学研究院栄養化学研究分野で行ったものである。多大なご協力をいただいた池田郁男教授、窄野昌信教授、佐藤匡央准教授、院生・学生諸君に御礼申し上げます。また、ご指導ご鞭撻をいただいた菅野道廣先生をはじめとする多くの皆様に御礼申し上げます。