

# 不安定な食品有効成分の機能解析

脇本 敏 幸

東京大学大学院薬学系研究科 講師

## 緒 言

ミドリイガイはイガイ科に属する二枚貝であり、外見はムール貝と似ているが、外殻が緑色を呈する点が大きな特徴である。ニュージーランド先住民であるマオリ族は、古くからこの貝の生理作用に着目しており、特に滋養強壮作用を期待して常食してきたと伝えられている。その後、ニュージーランドに入植した西欧人の疫学的な研究によって、この貝の抗炎症作用が認識されるに至り、実際にイギリス、香港において行われたヒトを対象とした臨床試験によって関節炎の予防効果や症状の改善作用が認められ、現在ではサプリメントとして欧米を中心に市販されている。それ以降、ヒトや動物に対する抗炎症効果の立証が盛んに行われた。

しかしながら、その立証や製品化には大きな課題があった。海洋生物のオイルには EPA (エイコサペンタエン酸) や DHA (ドコサヘキサエン酸) などの高度不飽和脂肪酸が多く含まれることが知られている。これらオメガ-3 脂肪酸は、飽和脂肪酸などに比べて酸化されやすく不安定であることが知られている。不飽和脂肪酸は容易に酸化され、引き続く脂質過酸化反応によって生物試料の損壊に基づく劣化を引き起こす可能性がある。そのため、ミドリイガイの製品化には低温処理が不可欠であり、凍結乾燥処理によって粉末化が試みられた。そのうえ、酒石酸等の安定化剤を加えることで活性を維持した凍結乾燥粉末が製造できるようになった。この安定化効果は金属のキレート効果および抗酸化効果によるものと考えられる。これ以降、ミドリイガイの凍結乾燥物が関節炎に対する改善効果を示すサプリメントとして市販されている。

その後、凍結乾燥物を効果的に濃縮するために超臨界二酸化炭素抽出したオイルが市販されるようになった。粉末重量の 4~5% がこのオイルに相当する。つまりその活性が 20 倍程度濃縮されることになる。オイルの構成成分はトリグリセリド、遊離脂肪酸、リン脂質などの

極性脂質、カロテノイドなどを含む。魚油が抗炎症活性を示し、EPA などに代表されるオメガ 3 脂肪酸がその活性を担う成分であることはよく知られてきた。魚と同様に海洋生物であるミドリイガイの脂質にもオメガ 3 脂肪酸が高濃度で含まれている。しかし、Whitehouse らの研究によってミドリイガイのオイルはラットを用いた抗炎症活性試験において魚油よりも圧倒的に低濃度で抗炎症作用を示すことが報告された<sup>2)</sup>。このことはオメガ 3 脂肪酸以外の抗炎症活性成分の存在を示唆している。

## 結 果

その活性成分の同定はいくつかの研究グループによって進められてきたが、未だに十分に明らかになっていない。ミドリイガイの活性は水溶液中 3 時間で活性を失うほど不安定であることが知られてきた。これは活性成分自体が不安定な物性を有することと、水溶液中において酵素的および非酵素的なラジカル産生による酸化障害によって分解する可能性が考察される。このようにその活性を維持することが困難な生体試料であるがゆえにその活性成分の単離、同定はより困難な状況であった。これまで報告されてきた活性物質は ETA (エイコサテトラエノイック酸)、核酸誘導体などがある。しかしながら、いずれも動物実験に対して明確な抗炎症効果を示したとの報告はない。ミドリイガイの活性本体は実際に経口投与によって活性を示す成分であり、体内の代謝を経て抗炎症活性を発揮する成分であるため、抗炎症活性成分の同定においては少なくとも動物試験において抗炎症活性が認められる必要がある。またミドリイガイのオイル抽出物が抗炎症活性を示す試験系において同様に活性を示す成分でなければ、その活性成分とは言いがたい。そこで我々は実際にラットを用いた関節炎モデルによってその活性成分の探索を進めた。

ラットを用いた抗炎症活性を指標に有効成分の単離を進めたところ、活性成分は何らかの脂肪酸である可能性

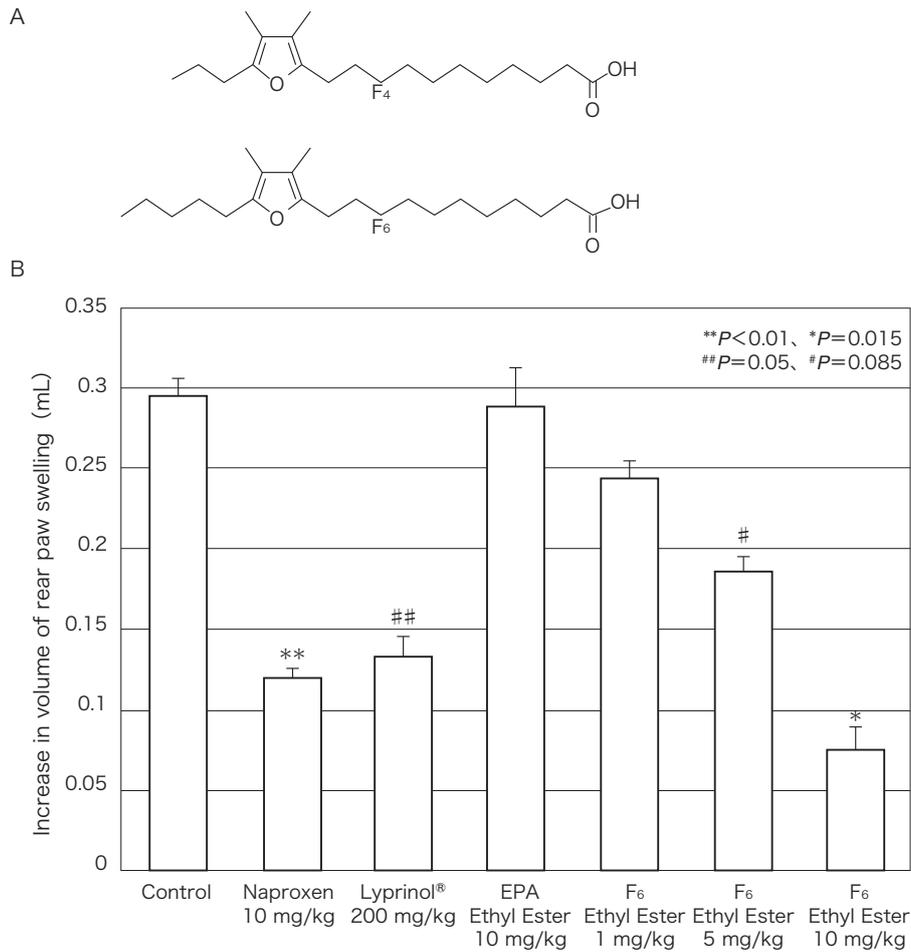


図1 フラン脂肪酸の構造と抗炎症作用

A. 主要なフラン脂肪酸の構造。B. ラット関節炎モデルに対する浮腫抑制作用

が浮上してきた。主に存在するオメガ3脂肪酸以外に不安定かつ活性を有する脂肪酸がミドリイガイに高濃度で存在していれば、魚油との活性の違いを説明できる。そこで活性成分の分析をさらに詳細に進めた。各種精製、分析方法を組み合わせ、活性成分の単離を試みたところ、ミドリイガイのオイルには1グラムあたりフラン脂肪酸(F4 + F6、図1 A)が5ミリグラム程度含まれていた。この耳慣れない脂肪酸は1970年代にサケ科魚類より見出された脂肪酸あり、その後の研究において魚のみならずカエル、カメやオリーブオイルなどの植物オイルにも検出され、広く天然に存在する微量脂肪酸であることが分かっている。同時に我々はサメ胆汁中に大量にフラン脂肪酸代謝産物が存在することを見出し、その代謝産物を原料に用いてフラン脂肪酸エチルエステルを合成し、ラットを用いた抗炎症活性を評価した。慢性炎症の動物モデルとして、ラットのアジュバント関節炎モデルを抗

炎症活性の評価系に用いた。ラット右後肢へアジュバント (*Mycobacterium butyricum* の死菌) 処置後、10日目に発症する全身性の炎症を左後肢 (非処置肢) の浮腫体積によって評価した。フラン脂肪酸エチルエステルをオリーブオイルに懸濁し、10日以降の4日間経口投与を行った。その結果、フラン脂肪酸エチルエステルは市販のEPAエチルエステルよりも低濃度で炎症を抑えることが明らかになった。本研究によってフラン脂肪酸の抗炎症活性が初めて示された (図1 B)<sup>3)</sup>。

通常生体内に含まれる脂肪酸は何らかのエステル体として存在する。そのため、脂肪酸の経口投与による活性評価にはどのような脂質形態であるかが重要になる。そこで我々はフラン脂肪酸を含有するトリグリセリドやリン脂質を調製するために、フリーのフラン脂肪酸の合成を試みた。上述のエチルエステル体の合成中間体としてベンジルエステル体を利用して、フラン脂肪酸ベンジル

エステルを合成した。クロロホルム中、接触還元によってベンジル基の脱保護を試みた所、副反応として予想されるフラン環の還元を回避して、ベンジル基のみの除去に成功した。本経路によってフリー体のフラン脂肪酸の合成に成功した。フリー体の浮腫抑制活性を評価した所、エチルエステル体に比較して大きく減弱し、目立った抑制作用は認められなかった。今後はフリー体のフラン脂肪酸を用いて各種エステル体の調製を行い、それぞれの抗炎症作用を評価していく予定である。

## 考 察

前述のようにフラン脂肪酸はミドリイガイに特有の成分ではない。特にサケ科の魚類に高濃度で含まれているとともに、魚やカメ、植物にも普遍的に含まれていることが知られている。実際に我々もミドリイガイと同様に滋養強壮作用が期待されているスッポンにフラン脂肪酸が高濃度で含まれていることを見出している。ミドリイガイの抗炎症作用が特に注目されてきた背景には、他のフラン脂肪酸含有生物に比べ、より効率良くフラン脂肪酸を摂取できる食材であった可能性を考察している。フラン脂肪酸は酸化されやすく、他の脂肪酸に比べて不安定な脂肪酸である。そのため、加熱処理等では失われやすく、生で摂取することが望ましい。仮にフラン脂肪酸を含む魚や植物であったとしても、生のままでかつ比較的高濃度で摂取できる食材となると限られる。マオリ族はミドリイガイを生で定期的に摂取してきた事を考え合わせると、ミドリイガイは不安定なフラン脂肪酸を効率用摂取できる対象であった可能性がある。

## 要 約

ミドリイガイに関節炎の治癒効果があるかどうかについては未だに検証する研究報告が相次いでいる<sup>4)</sup>。これも活性発現機構や活性成分が未だ不明であることが大きな要因と考えられる。私たちはミドリイガイの抗炎症活性成分の1つとしてフラン脂肪酸の存在を示してきた。しかしながら依然としてミドリイガイの抗炎症活性のすべてをフラン脂肪酸だけで説明できる訳ではなく、さらに強力かつ酸化によって失われやすい活性成分が存在する可能性も否定できない。また多量に含有されるオメガ-3脂肪酸の寄与も考慮に入れる必要がある。活性成分の特定によってミドリイガイ素材の安定化、効能の検証が可能になるであろう。先人が見出した貴重な知見を科学的に明らかにすることで、私たちの健康維持に不可欠な食品機能が明らかになることが期待できる。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団に心より感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) E. Servet, et al.: *J. Nutr.* 136, 1995S-1997S, 2006.
- 2) M. W. Whitehouse, et al.: *Inflammopharmacology* 5, 237-246, 1997.
- 3) T. Wakimoto, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 17533-17537, 2011.
- 4) S. Brien, et al.: *Q J Med.* 101, 167-179, 2008.