

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：34421

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K00885

研究課題名(和文)担子菌類に含まれる複合脂質成分の解析と腸管免疫および全身性の免疫賦活作用の検討

研究課題名(英文) Analysis of complex lipid components contained in basidiomycetes and evaluation to intestinal immunity and systemic immunostimulatory action.

研究代表者

庄條 愛子 (Shojo, Aiko)

相愛大学・人間発達学部・教授

研究者番号：40517265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、食用担子菌類の総脂質からの各種脂質類の分離と定量、分布について分析可能なシステムを再現・確認した。この分析結果から食用担子菌類子実体の総脂質は、糖セラミドの種類、含有量に大きな差があること、中性脂質や極性の高い複合脂質の種類、含有量に大きな差があること、キノコの種類により複合脂質の種類は大きく異なり、非常に多種であることを再現・確認できた。一方、キノコ子実体に含まれる複合脂質や糖脂質の含量は極めて少ないこと、総脂質抽出後の損失が大きいことなどから、詳細な分析や動物実験に用いる十分な量を精製する技術を確認することはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は分析を行う研究施設に標準的に設置されており、取扱いは他の精密分析機器に比べて容易である。価格も他の精密分析器より安価であり、食品の生産現場や一次加工施設などでの導入も容易と考える。機能性表示食品をはじめとする保健機能食品の表示制度の対象は生鮮食品も含まれることから、食品の機能性成分の分析は付加価値の向上のために重要と考える。本研究で食用担子菌類の機能性成分である複合脂質をHPLCで容易に分析できる技術として確認できたことは、汎用分析器での食品の機能性成分の分析技術の確立、食品の付加価値の向上に資するものとして、学術的意義や社会的意義を有すると考える。

研究成果の概要(英文)：Using high performance liquid chromatography (HPLC), we have confirmed a system that capable of analyzing the separation, quantification and distribution of various lipids from the total lipids of edible basidiomycetes. From these results, it is clearly demonstrated that 1) the type and content of sugar ceramide of total lipids of edible basidiomycetes fruit bodies have a large difference. Similarly, 2) content of neutral lipids and polar lipids contained to total lipids of edible basidiomycetes fruit bodies had riched in variety. 3) It was confirmed that the types of complex lipids contained differ greatly depending on the type of mushroom, and that are very diverse. On the other hands it was expected that the content of complex lipids and glycolipids contained in the fruiting body of mushrooms was very low, and the loss after extraction of total lipids was high. Methods for purifying a sufficient amount of lipids for detailed analysis and animal experiments could not be established.

研究分野：食品科学

キーワード：食用担子菌類 複合脂質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

担子菌 Basidiomycota の子実体であるキノコは、古くから食用として馴染み深く、アガリクス、ハナビラタケなどは健康食品としても広く販売・消費されている。その機能性について多くの研究が行われ、特にハナビラタケ *Sparassis crispa* においては、血糖値低下作用、マスト細胞を介したアレルギー性炎症の抑制による抗アレルギー作用やヒト NK 細胞の増加と活性化、糖尿病ラットでの損傷治癒促進作用等、近年に至るまで多数の報告がなされている。これらの報告において、多様なハナビラタケの生理作用の多くは高濃度に含まれる β -グルカンによると考察されている。キノコに含まれる β -グルカンについては、シイタケに含まれるレンチナン、スエヒロタケに含まれるソニフィランおよびカワラタケに含まれるクレスチンなどが広く研究され医薬品としても認可されており、キノコにおける含有量が最も高いことから、生理活性の主成分であると認識されている。一方で、ハナビラタケの β -グルカンを含まない低分子画分(分子量 8,000 以下)をマウスに経口摂取させた場合には、担癌動物での癌細胞増殖抑制効果が確認されていることから、 β -グルカン以外の微量成分が免疫応答に関与している可能性が示唆される。

基盤(C)課題番号 25350159 において市場流通量の多いキノコ子実体からの複合脂質の大量調整法、HPLC を用いた複合脂質の分離技術を検討し、キノコ子実体には糖脂質を含む複合脂質が多種類含まれることが明らかになったことから、本研究課題の着想に至った

2. 研究の目的

本研究課題は、食用担子菌類の複合脂質に関する基盤(C)課題番号 25350159 の成果である複合脂質の大量調整法および HPLC を用いた複合脂質の分析方法の再現、食用キノコ子実体のセラミド含有スフィンゴ糖脂質(GSL)を中心とした極性脂質を含む広範囲な複合脂質の分析方法の確立、食用キノコ子実体での含有量を検討することを目的とした。また、多様な複合脂質成分の *in vitro* および *in vivo* での免疫調節における作用機序について検討を行い、子実体を中心としたキノコの機能性を脂質生化学的・脂質免疫学的側面から評価し、体調調節機能である三次機能について検討することも重点的な目的として、研究計画を行った。

3. 研究の方法

(1)各種キノコに含まれる脂質成分の抽出と単離精製

基盤(C)課題番号 25350159 を再現するため市場で販売されている各種食用担子菌(食用キノコ:エノキタケ、マイタケ、エリンギ、シメジ、ハナビラタケ)子実体から脂質成分を抽出し、薄層クロマトグラフィー(TLC)で展開し、各種脂質成分を単離精製した。

(2)総脂質からの各種脂肪類の分離と定量、分布および脂肪酸組成の解析

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、各種食用担子菌(食用キノコ:エノキタケ、エリンギ、シイタケ、ハナビラタケ)総脂質成分中の各種脂肪類の分離と定量および脂肪酸組成の解析を検討した。

4. 研究成果

(1)各種キノコに含まれる脂質成分の抽出と単離精製

基盤(C)課題番号 2535015 の成果を基に、ラージスケール(食用担子菌類子実体 乾燥粉末 30g)での総脂質の抽出の再現実験を行った。脂質抽出の際には、食用担子菌類子実体を低温(30 以下)で風乾したもので、子実体凍結乾燥粉末とほぼ同じ量の総脂質が得られた。また、ラージ

スケール抽出では、乾燥子実体を抽出溶媒(クロロホルム：メタノール)に長時間(12~24 時間)浸漬することで、小バッチ抽出法とほぼ同じ量の総脂質を得ることができた。さらに、低温風乾子実体法、抽出溶媒への長時間の浸漬によるラージスケール抽出で得られた総脂質の TLC パターンは、いずれも基盤(C)課題番号 2535015 の成果と同じであった。

一方、ラージスケール抽出で得た総脂質の TLC での展開・回収による個々の糖脂質や複合脂質の単離精製は、計画通りに進行できなかった。そのため本研究では、*in vitro* および *in vivo* での免疫調節における作用機序について、検討には至らなかった。この原因として、総脂質に含まれる糖脂質や複合脂質の含量が極めて少ないこと、総脂質の抽出から TLC での展開までの保存期間や保存条等が適切でないこと、総脂質からの単離精製方法が適切でないこと、などの原因が考えられる。これらのことから本研究の今後の課題として、糖脂質や複合脂質の分取カラムを用いた HPLC での単離精製技術の確立を見出すことができた。

(2)総脂質からの各種脂肪類の分離と定量、分布および脂肪酸組成の解析

基盤(C)課題番号 2535015 を再現するため、シイタケ、エリンギ、ハナビラタケなどの HPLC を用いた複合脂質の分析方法の再現実験を行った。基盤(C)課題番号 2535015 と同様に PVA 表面修飾シリカゲルカラムを用いた HPLC 分析では、総脂質、糖脂質および複合脂質が同時に測定できる分析方法を再現し、その方法を確立できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi R, Nakaya M, Kotaniguchi M, Shojo A, Kitamura S	4. 巻 1077-1078
2. 論文標題 Analysis of phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, and plasmalogen molecular species in food lipids using an improved 2D high-performance liquid chromatography system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography B	6. 最初と最後の頁 35-43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jchromb.2018.01.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	北村 進一 (Kitamura Shinichi) (60117869)	大阪府立大学・研究推進機構・特認教授 (24403)	
研究分担者	水野 浄子 (Mizuno Seiko) (90190652)	相愛大学・人間発達学部・教授 (34421)	