

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16H03034

研究課題名（和文）魚油が特異的に含む各種長鎖モノエン型脂肪酸位置異性体と体脂肪蓄積抑制能の関係解明

研究課題名（英文）Elucidation of the relationship between the positional isomers of various long-chain monoene-type fatty acids specifically contained in fish oil and their ability to inhibit body fat accumulation

研究代表者

後藤 直宏 (Gotoh, Naohiro)

東京海洋大学・学術研究院・教授

研究者番号：60323854

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、魚油に多く含まれる長鎖モノ不飽和脂肪酸（LC-MUFA）の構造と保健機能の関係を精査した。炭素数20、二重結合数1の20:1異性体の細胞試験でc15-20:1が有意に脂質蓄積能を低下させたことより、二重結合位置がLC-MUFAの機能に影響を与えることが判明した。炭素数18、20、22のLC-MUFAを添加した細胞試験より、LC-MUFA炭素鎖の長さも保健機能に影響を与えることを明らかにした。さらに、DHAやEPAと、LC-MUFAを混ぜて細胞へ添加したところ、c7-C20:1+DHA投与群でDHA+EPA投与群と比較し有意にコレステロール合成を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の長鎖モノ不飽和脂肪酸（LC-MUFA）の保健機能に係る研究では、LC-MUFA二重結合位置だけでなく鎖の長さも関係することを明らかとした。さらに、LC-MUFAは同じく魚油に含まれるDHAと相乗的にコレステロール蓄積抑制能を発揮することも明らかにした。このようなことから、本研究成果は脂質代謝研究の重要な礎になり、結果的に、生活習慣病予防のための新しい食事スタイルの提案や、「魚食」の高付加価値化へと繋がると考える。さらに、高コレステロール、糖尿病、脂肪肝治療薬、血中脂質低下薬の開発の基礎的知見としても利用できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, the relationship between the structure and health function of long-chain monounsaturated fatty acids (LC-MUFAs), abundant in fish oil, was examined. The position of the double bond was found to affect the function of LC-MUFA because c15-20:1 significantly reduced lipid accumulation in cell experiment among 20:1 isomers consisting of 20 carbon atoms and one double bond. Cell experiments using LC-MUFA with carbons of 18, 20, and 22 revealed that the length of the LC-MUFA carbon chain also affected the health function. Furthermore, when LC-MUFA was mixed with DHA or EPA, "c7-C20:1+DHA" significantly inhibited cholesterol synthesis in the cell compared to "DHA+EPA".

研究分野：油脂化学

キーワード：魚油 モノエン型不飽和脂肪酸 異性体 体脂肪蓄積抑制

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 魚油は多くの保健機能を有する油脂として長年注目を集めている機能性素材である。その機能は、血中中性脂肪低下能、血中コレステロール低下能、肝臓脂肪蓄積抑制能、抗炎症作用、血中アディポネクチン増加能など多岐にわたる。さらに、n-3系多価不飽和脂肪酸(n-3PUFA)の構造と保健機能の関係は、n-3PUFAの炭素数が増えるほど、そして二重結合数が増えるほど血中アディポネクチン量が増加し、肝臓脂肪蓄積量が減少することが明らかとなっており魚油に含まれるn-3PUFAの構造と機能性に関しては多くの知見が得られている。

(2) 一方で近年、Yangらは、サンマやタラに多く含まれる炭素数が20や22の長鎖モノ不飽和脂肪酸(LC-MUFA)にも、食後の血中中性脂肪増加を減少、肝臓脂肪や体脂肪の蓄積抑制などの保健機能が備わっていることを報告している(Yang et al. *Lipids in Health and Disease* 2011, 10:189; Yang et al. *Lipids in Health and Disease* 2012, 11:95)。n-3PUFAとLC-MUFAは魚油に特異的に含まれる脂肪酸種であり(図1)魚油の保健機能を発揮する機能成分の全容は少しずつ明らかになってきた。n-3PUFAは、体内でプロスタグランジ、ロイコトリエン、レゾルピン、プロテクチンなどの炎症や抗炎症をコントロールする脂肪酸由来の体内情報伝達物質へ変換されるが、この働きは、n-3系列の脂肪酸の構造によって異なってくる。その一方で、LC-MUFAの保健機能は魚油を用いた動物試験などで明らかになってきているが、どのような構造尾LC-MUFAが肝臓脂肪や体脂肪の蓄積抑制などの保健機能を発揮するのかに関する知見は得られていない。

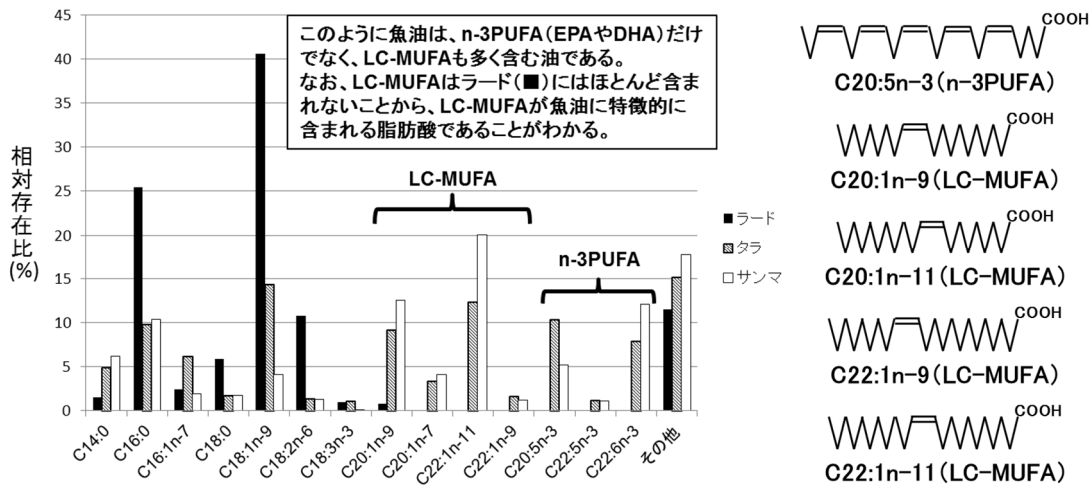


図1 ラード、タラ、サンマ油中の脂肪酸組成比較 (Yang et al. *Lipids in Health and Disease* 2011, 10:189; Yang et al. *Lipids in Health and Disease* 2012, 11:95 のデータをグラフ化)

2. 研究の目的

(1) 我々はこれまで、トランス型モノエン脂肪酸に関わる研究(トランス脂肪酸の分析方法の研究)を行ってきており、標準物質を手に入れるために多種類のLC-MUFAを合成してきた。そこで本研究ではこの技術を利用し、脂肪酸の鎖長や二重結合位置が異なる純度99%以上のLC-MUFAを合成し、どのような構造を有するLC-MUFAが強い体脂肪蓄積抑制能を有するのか、細胞試験、動物試験などを用いて評価し、明らかにすることを目的とした(図2)。

(2) さらに、サンマやタラなどのn-3PUFAも多く含む魚油が、強い食後の血中中性脂肪増加抑制効果や肝臓脂肪や体脂肪蓄積抑制効果を有したことから、n-3PUFAとLC-MUFAの相乗効果についても同様の手法で評価することも目的とした(図2)。

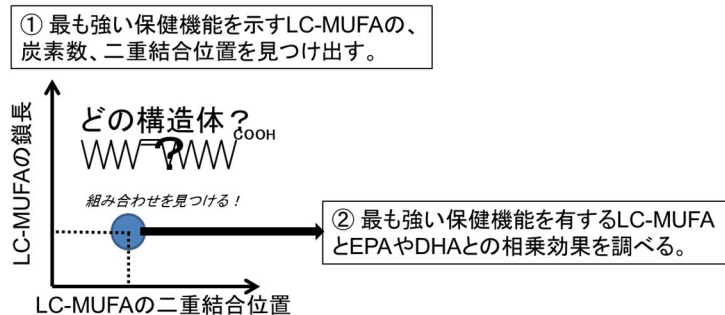


図2 研究の目的

3. 研究の方法

(1) 最初に炭素数18、20、22のLC-MUFAの有機合成を行った。合成したLC-MUFAはn-5、7、9、11、13、15の炭素数20および22のLC-MUFAで、アルキンを用いたカップリング反応で二重結合位置を決め、最終的にGrignard反応でカルボキシル基を導入する方法で目的の各種LC-MUFA位置異性体を合成した(図3)。



表 1 インド洋に生息する魚介類中の LC-MUFA 異性体分析結果

SR No.	Common name	Content of the individual isomers (mg/g of oil)												Total c-20:1 (mg/g of oil)	
		c5 (n-15)		c7 (n-13)		c9 (n-11)		c11 (n-9)		c13 (n-7)		c15 (n-5)		Mean	SD
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
1	Anchovy	ND	-	0.19	0.03	0.10	0.06	0.66	0.08	0.52	0.08	0.02	0.03	1.48	0.14
2	Squid	ND	-	0.54	0.00	0.06	0.05	5.62	1.24	0.10	0.02	ND	-	6.32	2.22
3	Rainbow sardine	0.04	0.01	0.45	0.02	0.49	0.15	1.97	0.18	1.40	0.17	0.57	0.08	4.92	0.30
4	Mullet	ND	-	0.48	0.10	0.05	0.05	0.49	0.07	0.84	0.18	0.01	0.00	1.87	0.37
5	White sardinella	0.02	0.00	0.34	0.08	0.06	0.00	1.73	0.44	0.81	0.18	0.03	0.02	2.98	0.64
6	Bagrid catfish	ND	-	0.18	0.04	0.12	0.07	8.47	1.59	0.65	0.11	0.01	0.01	9.42	1.67
7	Pickhandle barracuda	ND	-	0.30	0.06	0.20	0.05	0.75	0.17	0.47	0.01	0.02	0.02	1.73	0.25
8	Yellowstriped goatfish	0.04	0.01	0.95	0.12	0.27	0.11	4.35	0.54	2.52	0.24	0.12	0.07	8.24	0.92
9	Tooth pony	0.24	0.04	6.60	0.94	0.03	0.05	3.97	0.62	2.30	0.50	0.14	0.00	13.28	0.66
10	Blackspot snapper	0.04	0.05	1.59	0.16	0.13	0.02	3.49	0.65	1.35	1.01	0.03	0.03	6.62	2.89
11	Malabar travelly	ND	-	0.24	0.00	0.17	0.18	1.11	0.14	0.56	0.11	0.03	0.03	2.11	0.19
12	Yellow stripe scad	ND	-	0.13	0.01	0.09	0.10	1.64	0.27	0.48	0.10	0.02	0.03	2.36	0.23
13	Spotted sardinella	0.04	0.04	0.64	0.07	0.21	0.06	5.10	0.54	1.92	0.53	0.09	0.05	8.00	0.69
14	Indian mackerel	0.06	0.02	0.78	0.11	0.15	0.08	1.88	0.35	2.88	0.53	0.20	0.00	5.95	1.04
15	Long face emperor	0.01	0.00	3.07	1.21	1.17	0.01	2.74	1.60	0.93	0.31	ND	-	7.92	3.94
16	Rainbow runner	0.01	0.01	0.46	0.03	0.10	0.06	1.94	0.32	0.59	0.09	0.03	0.01	3.12	0.33
17	Big eye scad	ND	-	0.36	0.07	0.11	0.07	1.59	0.22	0.60	0.12	0.03	0.02	2.69	0.35
18	Yellow fin tuna	0.01	0.00	0.58	0.13	0.22	0.09	4.04	0.57	1.15	0.19	0.10	0.04	6.09	0.58
19	Spanish mackerel	ND	-	0.35	0.03	0.37	0.13	4.57	0.56	0.66	0.09	0.10	0.03	6.05	0.49
20	Spotted croaker	ND	-	0.26	0.10	0.21	0.23	1.55	0.15	0.76	0.20	0.02	0.03	2.80	0.19
21	Cuttle fish	0.01	0.03	1.95	0.67	0.07	0.03	5.36	0.76	0.25	0.05	0.01	0.01	7.66	1.54
22	Commerson's sole	0.24	0.12	13.06	4.31	0.03	0.00	2.48	0.83	12.19	3.60	0.52	0.29	28.52	8.67
23	Rabbit fish	0.04	0.04	2.98	0.48	0.12	0.05	3.62	0.65	3.33	0.98	0.09	0.02	10.18	2.05
24	Obliquebanded grouper	ND	-	0.67	0.13	0.17	0.04	5.60	0.85	1.35	0.23	0.06	0.05	7.85	1.16
25	Big eye barracuda	ND	-	0.48	0.03	0.20	0.09	1.86	0.32	0.76	0.15	0.03	0.04	3.34	0.31
26	Indian anchovy	0.06	0.04	1.69	0.20	0.03	0.05	1.02	0.13	1.16	0.15	0.05	0.05	4.02	0.05
27	Blacktip soldier fish	ND	-	0.67	0.07	0.24	0.07	6.92	0.52	1.10	0.29	0.04	0.05	8.98	0.67
28	Small scaled terapon	ND	-	0.25	0.07	0.14	0.02	1.39	0.43	0.73	0.16	0.01	0.02	2.53	0.63
29	Croaker	0.01	0.02	1.33	0.33	0.01	0.01	1.73	0.52	0.98	0.01	0.03	0.04	4.09	0.79
30	Blotched Croaker	ND	-	0.42	0.02	0.26	0.35	1.22	0.25	0.37	0.08	0.02	0.02	2.29	0.48
31	Croaker	0.06	0.07	2.01	0.29	0.06	0.05	4.35	0.36	2.80	0.65	0.11	0.05	9.39	1.39
32	Yellow tail scad	0.02	0.02	0.50	0.07	0.21	0.07	2.07	0.12	1.21	0.33	0.23	0.09	4.24	0.47
33	Long jaw thryssa	ND	-	0.21	0.15	ND	-	0.76	0.12	0.33	0.02	0.02	0.03	1.33	0.03
34	Hamilton's Thryssa	ND	-	0.34	0.02	0.15	0.04	2.75	0.12	1.06	0.19	0.06	0.04	4.36	0.03
35	Indian Salmon	0.01	0.01	0.48	0.01	0.17	0.04	3.24	0.26	1.72	0.40	0.10	0.03	5.72	0.55
36	Brownstripe red snapper	ND	-	0.88	0.29	0.17	0.17	1.31	0.17	0.68	0.31	0.02	0.03	3.07	0.63
37	Longspine-seabream	0.70	0.36	19.48	6.75	0.04	0.05	4.01	1.99	6.12	1.80	0.29	0.09	30.65	2.54
38	Orange striped emperor	0.04	0.04	1.33	0.36	0.09	0.10	2.91	0.39	1.55	0.50	0.04	0.00	5.97	0.15
39	Crimson jobfish	ND	-	0.55	0.16	0.19	0.07	7.38	0.52	8.64	1.98	0.25	0.04	17.01	3.83
40	Bigeye snapper	ND	-	1.14	0.12	0.22	0.09	6.13	0.77	1.29	0.29	0.11	0.05	8.90	0.85
41	Indian Snapper	ND	-	0.48	0.02	0.22	0.26	1.89	0.54	0.68	0.30	0.03	0.03	3.30	0.45
42	Longjaw thryssa	ND	-	0.53	0.08	0.10	0.02	2.16	0.22	1.26	0.29	0.06	0.03	4.11	0.72
43	Sail fish	ND	-	0.33	0.07	0.27	0.11	1.16	0.03	0.22	0.11	0.02	0.03	2.01	0.08
44	Malabar grouper	ND	-	0.66	0.19	0.26	0.15	1.19	0.29	0.35	0.05	0.01	0.02	2.46	0.58
45	Goatfishes	0.69	0.17	11.64	1.63	ND	-	15.97	2.28	5.92	0.40	0.18	0.06	34.39	4.57
46	Saury	ND	-	ND	-	131.10	10.37	34.06	1.70	0.83	0.08	0.97	0.29	166.95	12.44
47	True Sardine	ND	-	ND	-	58.99	10.70	16.32	3.01	0.55	0.15	0.85	0.16	76.72	13.70
48	Horse Mackerel	ND	-	0.23	0.03	1.30	0.37	11.25	1.58	0.69	0.11	0.05	0.03	13.51	2.13
49	Atlantic Mackerel	ND	-	ND	-	1.93	1.15	85.95	13.75	0.67	0.13	0.13	0.00	88.67	15.03
50	Salmon	ND	-	ND	-	0.47	0.10	17.29	6.37	0.48	0.19	ND	-	18.24	6.66
51	Capelin	ND	-	ND	-	0.55	0.77	156.60	3.35	5.13	0.83	0.40	0.11	162.69	3.51

Data represents the mean ± SD of three replicates (n = 3); ND-Not detected

(5) LC-MUFA+DHA 投与群と LC-MUFA+EPA 投与群において、コントロール群と比較して有意に脂質蓄積の抑制が見られた。また、全ての投与群において、コントロール群と比較して有意に T-Ch 量の減少が確認された。特に、c7-C20:1+DHA 投与群は、DHA+EPA 投与群との間にも有意差が見られた(図 8)。これより、魚油の抗肥満効果には、EPA や DHA だけではなく、MUFA も寄与していることが確認された。(現在投稿準備中)

なお、細胞試験までの実施となった。動物試験は今後の検討課題。

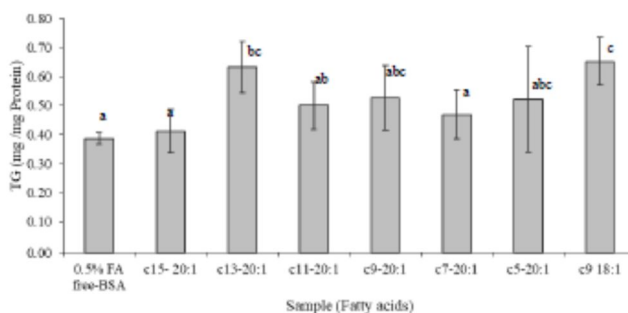


図 5 20:1 異性体間のトリアシルグリセロール蓄積量比較

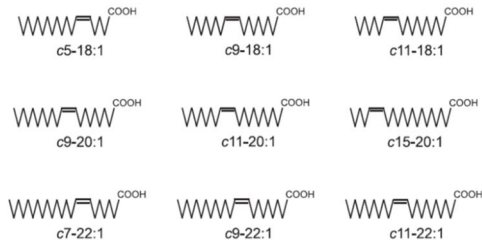


図6 (4)の研究で使用した LC-MUFA

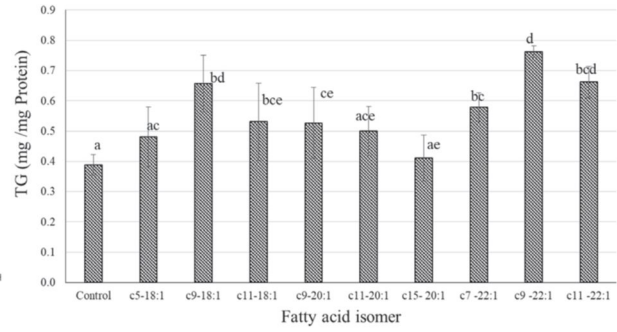


図7 図6で記した LC-MUFA ののトリアシルグリセロール蓄積量比較

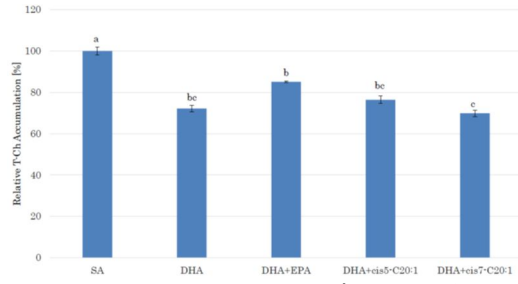


図8 HepG2 に DHA を添加したときの T-Ch 蓄積率

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 S. Senarath, F. Beppu, K. Yoshinaga, T. Nagai, A. Yoshida, and N. Gotoh	4. 巻 68
2. 論文標題 Comparison of the effect of long chain monounsaturated fatty acids positional isomers on lipid metabolism in 3T3-L1 cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Oleo Sci.	6. 最初と最後の頁 379-387
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess18223	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 該当する

1. 著者名 S. Senarath, K. Yoshinaga, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, and N. Gotoh	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Differential effect of cis-eicosenoic acid positional isomers on adipogenesis and lipogenesis in 3T3-L1 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur. J. Lipid Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ejlt.201700512	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 該当する

1. 著者名 S. Senaratha, K. Yoshinaga, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, C. Jayasinghe, C. Devadawson, and N. Gotoh	4. 巻 66
2. 論文標題 Quantitative analysis of distribution of cis-eicosenoic acid positional isomers in marine fish from the Indian Ocean.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Oleo Sci.	6. 最初と最後の頁 187-197
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess16155	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 S. Senarath, K. Yoshinaga, H. Mizobe, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, and N. Gotoh
2. 発表標題 Differential effect of cis-eicosenoic acid positional isomers on the cellular lipids and fatty acid composition in 3T3-L1 cells
3. 学会等名 The Asian Conference on Oleo Science 2017 & The 56th Annual Meeting of the Japan Oil Chemists' Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Senaratha, F. Beppu, K. Yoshinaga T. Nagai, A. Yoshida, and N. Gotoh
2. 発表標題 Quaantitative analysis of distribution of eicosenoic acid positional isomers in marine fishes from the Indian Ocean
3. 学会等名 日本油化学会第55回年会
4. 発表年 2016年

〔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	別府 史章 (Beppu Fumiaki)  (10707540)	東京海洋大学・学術研究院・助教   (12614)	