

令和元年6月11日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15278

研究課題名(和文) 共役型高度不飽和脂肪酸の構造の違いが腫瘍成長抑制効果に影響を及ぼす因子の解明

研究課題名(英文) Anti-cancer effect of a variety of conjugated fatty acids

研究代表者

本間 太郎 (Taro, Honma)

帝京大学・薬学部・助教

研究者番号：30707930

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：過去に共役脂肪酸の含有が報告されていない植物種子を対象に脂質分析を行った結果、*Centranthus ruber*と*Valeriana officinalis*の種子油中に共役リノレン酸(CLN)が含まれていることを発見した。ケイ酸カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーを用いてこれらの種子油を分画したところ、大部分のCLNはトリアシルグリセロール(TG)として存在していた。これらのCLNは他の脂肪酸と比べ、リパーゼにより容易に加水分解されたことから、*C. ruber*と*V. officinalis*のTG中に含まれるCLNはsn-2位よりもsn-1,3位に多く含まれていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、*Centranthus ruber*と*Valeriana officinalis*の種子油中にCLNが含まれていることを明らかとした。これらのCLNは他の脂肪酸と比べ、リパーゼにより容易に加水分解されていた。脂肪酸が癌細胞に取り込まれるためには遊離型として存在する必要がある。したがって、*C. ruber*と*V. officinalis*に含まれるCLNは他の脂肪酸と比べ癌細胞に効率よく取り込まれることが示唆された。今後、正常細胞への影響を含め安全性について検証することで、将来的には癌予防効果を持つ食品成分としてこれらの種子油のヒトへの応用が期待できると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, various plant seeds were examined to discover seed oils containing conjugated linolenic acids (CLNs). When the fatty acid compositions of seed oils belonging to the Valerianaceae family (*Centranthus ruber* and *Valeriana officinalis*) were measured, CLNs were detected. By silica column chromatography, neutral lipids (NLs), glycolipids, and phospholipids were eluted from seed oils of *C. ruber* and *V. officinalis*. Then, fatty acid compositions of these fractions were measured. This revealed that most of the CLNs in these seed oils existed in the NL fraction. In addition, the major components in NLs were confirmed to be triacylglycerols by thin-layer chromatography. When the NL fractions of these seed oils were reacted with lipase, CLNs showed good sensitivity to lipase hydrolysis. This suggested that the CLNs in the seed oils of *C. ruber* and *V. officinalis* existed predominantly at the sn-1,3 position of triacylglycerol and less at the sn-2 position.

研究分野：食品機能学

キーワード：癌 共役脂肪酸 脂質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では高齢者の割合が急増している。今後さらにその割合は増加し、それに伴って老化性疾患の罹患率も上昇すると予想される。「老化を防ぎ健康に高齢すること」は、個人のQOL (quality of life) の向上をもたらすばかりでなく、社会的・経済的にも非常に重要な意味を持っている。現在、日本人の死因として最も多くの割合を占めているのは悪性新生物(癌)である。癌の進行は食生活に深く依存していることから、食品による癌予防が期待される。本研究では、癌予防が期待できる食品成分として、殺癌細胞効果を持つ共役脂肪酸に着目した。

2. 研究の目的

共役脂肪酸は癌細胞に対して酸化ストレスを介した細胞死を誘導することが報告されている。共役脂肪酸は共役二重結合の数や位置、さらには鎖長の違いなどから非常に多くの種類が存在しており、生理活性の強さもそれぞれ異なることが予想される。そこで本研究では、共役脂肪酸の構造の違いと殺癌細胞効果の強さの関係について詳細を明らかにする前段階として、様々な天然物を対象に共役脂肪酸含有天然物のスクリーニングを行い、多様な構造の共役脂肪酸を入手することを試みた。

3. 研究の方法

様々な種子油中の共役脂肪酸の探索

これまでに共役脂肪酸の含有が報告されていない約 200 種類の植物種子について、Bligh & Dyer 法により脂質を抽出した。種子油をエタノールに溶解し、UV スペクトルを測定することにより共役構造に特徴的な吸収極大を検出した。共役脂肪酸の含有が示唆された種子油について、トリメチルシリルジアゾメタン法とナトリウムメトキシド法により脂肪酸をメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー分析により脂肪酸組成を測定した。さらに、共役脂肪酸についてはより詳細に化学構造を調べるため、脂肪酸をジメチルオキサゾリン誘導体化し、ガスクロマトグラフ-質量分析装置(GC-MS)を用いて脂肪酸の二重結合位置を推定した。

ケイ酸カラムクロマトグラフィーによる脂質の分画

共役脂肪酸の含有が示唆された種子油について、ケイ酸カラムクロマトグラフィーによって脂質の分画を行った。具体的には、ケイ酸を充填したオープンカラムにクロロホルム、アセトン、メタノールをそれぞれ順に流下させることで、種子油を中性脂質画分、糖脂質画分、リン脂質画分に分画し、各画分の存在率を求めた。さらに、ガスクロマトグラフィー分析により、各画分の脂肪酸組成を測定した。また、薄層クロマトグラフィーにより脂質をさらに細かく分画し、共役脂肪酸がどのような状態(遊離型、エステル型等)で存在しているかを調べた。

トリアシルグリセロール中における共役リノレン酸の結合位置の推定

リパーゼはトリアシルグリセロールの *sn*-1,3 位を加水分解することが知られている。そこで、トリアシルグリセロール中における共役脂肪酸の存在位置を推定するため、胆汁酸を含むバッファ中に中性脂質画分を加えて乳化させ、リパーゼを含む酵素液を添加し 40 °C で 20 分間インキュベートした。加水分解された遊離脂肪酸をメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー分析により脂肪酸組成を測定し、共役脂肪酸の存在率を求めた。

4. 研究成果

様々な種子油中の共役脂肪酸の探索

使用した植物種子のうち、オミナエシ科に属する *Centranthus ruber*、*Valeriana officinalis* の種子油において、共役トリエン構造に特徴的な吸収極大が観察された。そこで、これらの種子油について GC-MS 分析を行った結果、*Centranthus ruber* 種子油中に共役リノレン酸の一種である γ -エロステアリン酸、 δ -エロステアリン酸、カタルブ酸がそれぞれ全脂肪酸中の 7.3%、21.9%、2.2%含まれていた。また、*Valeriana officinalis* 種子油中には γ -エロステアリン酸、 δ -エロステアリン酸がそれぞれ全脂肪酸中の 31.6%、0.4%含まれていた。以上より、*Centranthus ruber*、*Valeriana officinalis* の種子油中に共役リノレン酸の存在が確認できた。

ケイ酸カラムクロマトグラフィーによる脂質の分画

ケイ酸カラムクロマトグラフィーを行った結果、*Centranthus ruber* の種子油中に中性脂質画分、糖脂質画分、リン脂質画分がそれぞれ 91.5%、6.6%、1.9%存在していた。また、*Valeriana officinalis* の種子油中には中性脂質画分、糖脂質画分、リン脂質画分がそれぞれ 94.3%、4.2%、1.5%存在していた。いずれの種子油も全脂肪酸中の共役リノレン酸含有率は中性脂質画分において最も高かった。さらに、中性脂質画分を薄層クロマトグラフィーにより分画した結果、トリアシルグリセロールが最も強いスポットとして検出された。したがって、いずれの種子油も共役リノレン酸はそのほとんどがトリアシルグリセロールとして存在していることが示唆された。

トリアシルグリセロール中における共役リノレン酸の結合位置の推定

種子油の中性脂質画分をリパーゼ加水分解し、得られた遊離脂肪酸をガスクロマトグラフィ分析により測定した結果、*Centranthus ruber* 種子油においては加水分解前後で共役リノレン酸含有率は大きく変化しなかったが、*Valeriana officinalis* においては中性脂質画分全体の共役リノレン酸含有率に比べ、加水分解後の遊離脂肪酸中の共役リノレン酸含有率の方が高かった。このことから、*Valeriana officinalis* は sn-1,3 位に共役リノレン酸を高い割合で含んでいると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. T. Honma, N. Shiratani, Y. Banno, T. Kataoka, R. Kimura, I. Sato, Y. Endo, K. Kita, T. Suzuki, T. Takayanagi, Seeds of *Centranthus ruber* and *Valeriana officinalis* contain conjugated linolenic acids with reported anti tumor effects, *Journal of Oleo Science*, 68, 481-491 (2019). (査読あり)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. T. Honma, I. Sato, N. Shiratani, Y. Banno, T. Takayanagi, K. Kita, T. Suzuki, Seed oils of *Centranthus ruber* and *Valeriana officinalis* contain conjugated linolenic acids and have a cytotoxic effect on cancer cells, 15th International Congress of Toxicology (ICTXV), 2019.

2. 本間太郎, 佐藤育美, 白谷信拓, 阪野友紀, 高柳 勉, 北 加代子, 鈴木俊英, オミナエシ科植物 *Centranthus ruber* 種子油による酸化ストレスを介した殺がん細胞効果, 日本薬学会第 139 年会, 2019.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。