

◀ 総説関連 ▶

親鶏由来の機能性リン脂質： スフィンゴミエリンの抗高脂血症及び抗高血糖効果

¹丸大食品株式会社 中央研究所, ²株式会社レオロジー機能食品研究所,
³農事組合法人エヌチキン, ⁴国立大学法人帯広畜産大学 食品科学研究部門,
⁵株式会社パイオニアフーズ

府中英孝¹・柚木恵太²・松山弘幸³・藤野武彦²・
大西正男⁴・小玉芳郎⁵・杉山雅昭¹

低利用の畜産資源である親鶏皮部は、SMの供給源として有望である。SMの機能として、脂肪肝の改善、高コレステロール血症の改善、高血糖症状の改善が期待でき、SMを1食当たり10mg含む試験食品は、軽度～中等度の高脂血症或いは高血糖の方の食事改善に有効な食品であることが示唆された。

1. はじめに

スフィンゴミエリン (SM) はスフィンゴ脂質の一種であり、スフィンゴシン、脂肪酸、リン酸、コリンから成り (図1)、高等動物の細胞膜や神経組織に広く分布している。スフィンゴ脂質は大腸がん発症予防効果、皮膚のバリア機能や保湿性の維持、コレステロール吸収阻害効果など様々な生理機能が報告されている。

Yunokiらは、小規模スケールの試験において親鶏皮部はSMやプラズマローゲンといった機能性複合脂質の供給源として有用であることを示した¹⁾。そこで、我々は安定的に供給可能な国産の畜産資源である親鶏に着目して、その高度利用の検討を行ってきた。産卵養鶏場では年間約1億3千万羽の鶏が飼育されており、産卵

¹ 〒569-8577 大阪府高槻市緑町21-3

² 〒811-2501 福岡県糟屋郡久山町久原2241-1

³ 〒897-0302 鹿児島県南九州市知覧町郡3669

⁴ 〒080-8555 北海道帯広市稲田町西二線

⁵ 〒040-1010 北海道虻田郡京極町字京極138-1

後の鶏として年間約9千万羽の親鶏が発生する。親鶏の品種としては茶系統のボリスブラウン、白系統のジュリア、ピンク系統のマリアなどがある。主要鶏種であるジュリア及びボリスブラウンの2鶏種について夏期及び冬期の親鶏皮部を採取して含量測定を行った結果、SM含有率に大きな変動はなかった (表1)。

2. スフィンゴミエリン素材の開発

鶏皮の中性脂肪除去並びに機能性リン脂質の濃縮を行うため、「気・液混合高温媒体 (アクアガス)」加熱装置「アクアクッカー」を用いて加熱処理を行った後、圧搾機を用いて脱油鶏皮を調製した。さらに機能性リン脂質の濃縮を行うために凍結乾燥、粉碎工程を経て、脱油鶏皮乾燥粉末を得た。SM含有量は脱油鶏皮で鶏皮の約2.5倍、脱油鶏皮乾燥粉末で鶏皮の約4.7倍に増加した (表2)。また、脱油鶏皮乾燥粉末の成分分析値を表3に示す。脱油鶏皮乾燥粉末は、タンパク質含有量が高く、特に機能性食素材として認知度の高いコラーゲンを豊富に含む食素材である。

高純度SMの調製方法を図2に示す。脱油鶏

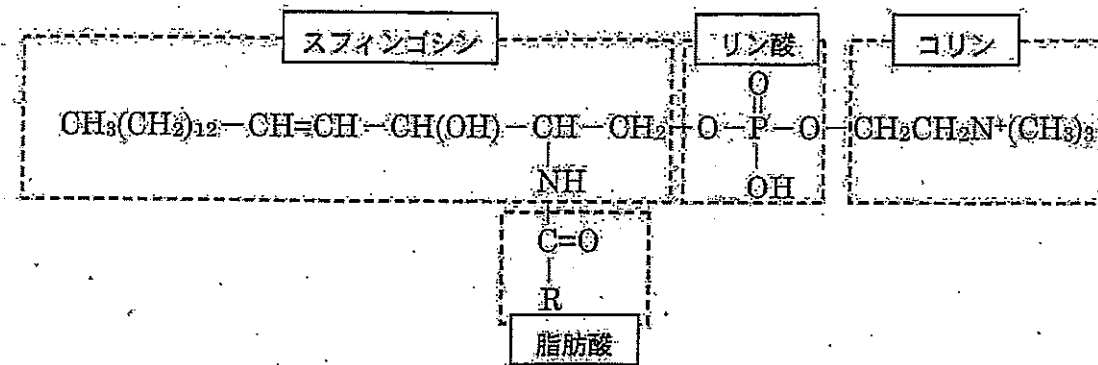


図1 スフィンゴミエリンの構造式

表1 親鶏皮部のリン脂質含有量 (季節変動)

	夏期		冬期	
	ジュリア	ボリスブラウン	ジュリア	ボリスブラウン
TL (g/100g)	14.6±3.1	21.1±0.3	26.0±2.5	22.1±2.5
PL (g/100g)	0.42±0.05	0.58±0.10	0.42±0.02	0.43±0.04
SM (mg/100g)	63±3	78±8	57±7	79±18

TL：総脂質、PL：リン脂質、SM：スフィンゴミエリン

測定方法：TL及びPLはYunokiらの方法¹⁾、SMはMawatariらの方法²⁾

表2 鶏皮各種試料のスフィンゴミエリン含有率

調製品	脱油工程 歩留 (%)	乾燥工程	TL (g/100g)	PL	SM (mg/100g)
生鶏皮	—	—	31.1	0.3	43.6
脱油鶏皮	35.1	—	13.5	0.7	112.7
脱油鶏皮乾燥粉末	—	43.3	31.3	1.4	207.0

表3 脱油鶏皮乾燥粉末の成分分析値

水分	タンパク質	脂質	灰分	ナトリウム	コラーゲン*
	(g/100g)			(mg/100g)	(g/100g)
2.7	65.6	34.7	0.9	66.0	39.7

*コラーゲンはヒドロキシプロリン (5.37g/100g) に係数7.4を乗じて算出した。

皮乾燥粉末のエタノール抽出物を得た後、少量の水を加えて攪拌して沈澱物を回収した。沈澱物をアセトン及びヘキサン/アセトンで分画して粗SM画分を調製した。次に、粗SM画分を

弱アルカリ分解処理した後、アセトン及び含水エタノールで洗浄して純度90%以上の高純度SM画分(図3)を調製した。高純度SMの脂肪酸組成及びスフィンゴ塩基組成を表4に示す。

脱油鶏皮乾燥粉末

↓エタノール

ろ液

↓濃縮乾固

エタノール抽出物

↓水

沈澱

↓アセトン

沈澱

↓ヘキサン/アセトン (7:3)

沈澱 (粗 SM 画分)

↓0.2M 水酸化ナトリウム

↓アセトン

沈澱

↓エタノール

沈澱

↓70%エタノール

沈澱

↓アセトン

沈澱

↓乾固

高純度 SM

図2 高純度 SM の調製方法

表4 SM の脂肪酸組成及びスフィンゴイド塩基組成

Acyl group	Mol%
C16:0	44.1
C18:0	20.1
C18:1	3.8
C20:0	4.1
C22:0	6.3
C22:1	0.2
C23:0	1.8
C24:0	6.0
C24:1	8.3
C24:2	1.8
Others*	3.0
Sphingoid base	
d18:0	1.7
d18:1 ^{4t}	98.3

※others : 14:0, 17:0, 19:0, 21:0, 25:0

尚, 測定方法は Yunoki らの方法³⁾に従って行った。鶏皮由来スフィンゴ脂質は C14:0 から C25:1 までの 16 種類の脂肪酸から成り, 主要な脂肪酸は C16:0 及び C18:0 であった。主要なスフィンゴイド塩基は哺乳動物で一般的にみられる 4-*trans*-sphinganine (d18:1^{4t}) であった。

3. 動物試験による抗高脂血症, 抗高血糖効果の確認

肥満モデルラット (Zucker ラット) にコントロール食 (AIN-76) 又は試験食 (AIN-76 に高純度 SM を 0.5% 加えた飼料) を 45 日間与えた後, 体重, 内臓脂肪重量, 肝臓の脂質分析, 血漿脂質, 血漿ホルモン, 血漿糖関連成分並びに肝臓の遺伝子発現解析を行った⁴⁾。コントロール食摂取群と試験食摂

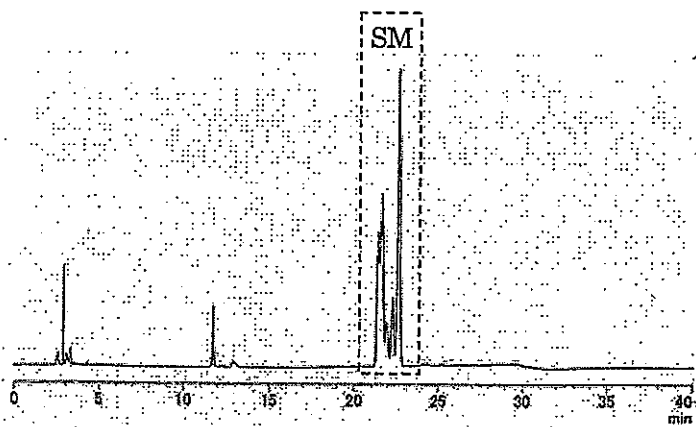


図3 高純度 SM の HPLC パターン

取群間で体重増加の差はなかった。試験終了時の腸間膜脂肪重量は試験食摂取群で減少した（試験終了時のコントロール食摂取群：8.84±0.54g，試験食摂取群：7.82±0.86g， $p<0.01$ ，平均値±SD）。肝臓の脂肪酸組成を表5に示す。総脂肪量は試験食摂取群で24.3%減少した（ $p<0.01$ ）。リン脂質由来のリン濃度は増加した（ $p<0.001$ ）。肝臓のコレステロール濃度は有意な変化はなかった（データ非掲載）。試験食摂取によってリノール酸（ $p<0.05$ ），アラキドン酸

（ $p<0.01$ ）及びドコサヘキサエン酸（ $p<0.01$ ）が増加し，n-3/n-6比が有意に増加した（ $p<0.01$ ）。血漿中の脂質関連成分並びにホルモンの分析結果を表6に示す。試験食摂取によって血漿中の総コレステロールの減少（ $p<0.01$ ），リン脂質の減少（ $p<0.05$ ）が観察された。血漿中の遊離脂肪酸量，トリグリセリド値に変化はなかった。インスリン濃度は21%減少したが（ $p<0.05$ ），アディポネクチン濃度は変化なかった。試験食摂取によって誘導される脂質代謝関連

表5 肝臓の脂肪酸組成

	コントロール食 (AIN-76)	試験食 (AIN-76+0.5%SM)
総脂質 (g/100g 肝臓)	26.3±1.2	19.9±1.4**
リン (mg/g 総脂質)	3.4±0.3	4.8±0.2***
14:0	1.6±0.2	1.7±0.1
16:0	42.9±0.4	41.4±1.0*
16:1 (n-7)	9.8±0.3	9.9±0.2
18:0	4.5±0.3	5.2±0.2*
18:1 (n-9)	31.2±1.3	28.9±1.2
18:1 (n-7)	2.5±0.2	2.5±0.0
18:2 (n-6)	4.3±0.6	5.4±0.4*
20:4 (n-6)	2.1±0.3	3.2±0.3**
22:6 (n-3)	0.4±0.1	0.8±0.1**
others	0.8±0.1	1.0±0.1
n-6	6.6±0.8	9.0±0.7*
n-3/n-6	0.07±0.01	0.09±0.01**

値は平均値±SD，コントロール食摂取に比べて*， $p<0.05$ ；**， $p<0.01$ ；***， $p<0.001$

表6 血漿中の脂質、グルコース、インスリン及びアディポネクチン濃度

	コントロール食	試験食
total cholesterol (mg/dL)	181.5±11.2	139.5±9.4**
non-HDL-cholesterol (mg/dL)	97.5±12.4	66.0±9.4**
TG (mg/dL)	171.4±80.8	164.0±38.9
PL (mg/dL)	287.8±24.7	243.8±14.7*
FFA (mequiv/dL)	2.3±1.5	1.6±0.3
glucose (mg/dL)	160.2±14.3	169.8±24.2
insulin (ng/dL)	14.6±1.9	11.5±0.9*
adiponectin (µg/dL)	27.5±1.6	27.2±4.9

値は平均値±SD，コントロール食摂取に比べて*， $p<0.05$ ；**， $p<0.01$ ；***， $p<0.001$

遺伝子の発現の変化を解析するために肝臓の総 RNA を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った (表 7)。コレステロール合成系遺伝子では, Hmgcs1 の発現量は減少していたが ($p < 0.01$), Hmgcr の発現量は変化がなかった。また, ピルビン酸からアセチル CoA を合成するピルビン酸デヒドロゲナーゼをリン酸化して阻害する Pdk4 の発現量が増加した ($p < 0.01$)。コレステロール輸送系遺伝子では, Lrp4 発現量が増加傾向を示した ($p < 0.1$)。また, コレステロール排出系遺伝子では, Abcg5 の発現が増加した

($p < 0.05$)。アディポネクチンシグナリング関連遺伝子では, 主に肝臓に発現している Adipor2 ($p < 0.01$) 及びその下流に位置する Ppara ($p < 0.05$) の発現上昇が見られた。

SM 摂取によって, Pdk4 発現上昇によるアセチル CoA 合成の抑制, Hmgcs1 発現低下によるアセトアセチル CoA から HMG-CoA の産生抑制といったコレステロール合成の低下, Lrp4 発現上昇によるコレステロール輸送系の亢進, Abcg5 発現上昇によるコレステロール排出系の亢進によって血漿コレステロール値の低下が引

表 7 肝臓における脂質代謝関連及び糖代謝関連遺伝子の発現変化

Gene name	description	試験食/コントロール食
Hmgcr	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	1.1
Hmgcs1	hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	0.5
Pdk4	pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 4	4.3
Cyp7a1	Cytochrome P450, 7A1	0.3
Lrp4	LDL receptor-related protein 4	2.2
Abcg1	ATP-binding cassette subfamily G, member 1	1.5
Abcg5	ATP-binding cassette subfamily G, member 5	2.8
Abcg8	ATP-binding cassette subfamily G, member 8	1.2
Lip1	lysosomal acid lipase	1.9
Acacb	acetyl-coenzyme A carboxylase β	0.6
Scd1	stearoyl-CoA desaturase 1	0.1
Nr1h3	liver X receptor α	0.5
Apoa5	apolipoprotein A5	1.5
Apob	apolipoprotein B	0.4
Adipor1	adiponectin receptor 1	1.3
Adipor2	adiponectin receptor 2	1.8
Ppara	peroxisome proliferator-activated receptor α	2.1
Cpt1a	carnitine O-palmitoyltransferase 1	1.4
Cpt2	carnitine O-palmitoyltransferase 2	2.1
Acox3	acyl-coenzyme A oxidase 3	1.7
Mlycd	malonyl-CoA decarboxylase	1.6
Fbp2	fructose-1, 6-bisphosphatase isozyme 2	0.6
Pck1	phosphoenolpyruvate carboxykinase	1.1
G6pc3	glucose-6-phosphatase, catalytic, 3	0.8
Hk3	hexokinase-3	2.0
Gck	glucokinase	1.5

き起こされたと考えられる。また、Cpt1a や Cpt2 発現上昇によって PPAR α が活性化され、肝臓の脂肪分解を促進し、脂肪肝の防止に繋がる可能性が示唆された。Scd1 発現の低下はインスリン感受性を亢進し、肥満防止に効果があると考えられる。

以上より、SM 摂取によって脂肪肝の改善、高コレステロール血症の改善、アディポネクチンシグナルの正常化によるインスリン抵抗性の改善が期待できる。

4. 治験による抗高脂血症、抗高血糖効果の確認

(1) 抗高脂血症治験

LDL-コレステロール値が 120mg/dL 以上の被験者に、1 食当たり SM を 10mg 含むミートボールを 4 週間摂取して抗高脂血症効果を確認した。治験の実施概要を表 8 に示す。

LDL-コレステロールにおいて、中性脂肪 150mg/dL 以上の被験者では、被験食品群の変化量は、対照食品群に比較して LDL-コレステロール値が有意に低かった（被験食品群： -10.0 ± 15.2 対照食品群： 20.3 ± 20.9 , $p < 0.05$ ）。また、中性脂肪 150mg/dL 未満の被験者においても、被験食品群の変化量は、対照食品群に比較して有意な差が認められた（被験食品群： 4.0 ± 15.0 対照食品群： -7.9 ± 15.4 , $p < 0.05$ ）。

総コレステロールにおいて、被験食品群の変化量は、対照食品群に比較し、総コレステロール値が有意に低かった（被験食品群： -15.8 ± 16.6 対照食品群： 14.9 ± 22.3 , $p < 0.05$ ）。

また、医師の診察や臨床検査等で臨症上問題となる所見は見られなかった。

(2) 抗高血糖治験

ヘモグロビン A_{1c} (HbA_{1c}) 値が 5.8~8.0% の被験者に、1 食当たり SM を 10mg 含むミートボ

表 8 抗高脂血症並びに抗高血糖治験の実施概要

	抗高脂血症治験	抗高血糖治験
試験デザイン	二重盲検並行群間比較 前観察期間 4 週間を経て、被験食品或いは対照食品を 4 週間継続摂取	
対照	LDL-コレステロール値 120mg/dL 以上の成人（性別不問） 被験食品摂取：24 名 対照食品摂取：24 名	HbA _{1c} 値が 5.8~8.0 の成人（性別不問） 被験食品摂取：16 名 対照食品摂取：15 名
主要評価項目	LDL-コレステロール 総コレステロール、HDL-コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸、空腹時血糖、HbA _{1c} 、体重、BMI、体脂肪率、腹囲	空腹時血糖、HbA _{1c} 糖化アルブミン、インスリン、HOMA-R、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪、体重、BMI、体脂肪率、腹囲
被験食品	SM 含有量：10.08mg/食（脱油鶏皮使用のチキンミートボール） 被験食品 1 食当たり 熱量：50kcal、タンパク質：4.7g、脂質：2.8g、炭水化物 1.4g	
対照食品	SM 含有量：0.76mg/食 対照食品 1 食当たり 熱量：46kcal、タンパク質：3.4g、脂質：1.1g、炭水化物 5.7g	

ールを4週間摂取して抗高血糖効果を確認した。
治験の実施概要を表8に示す。

HbA_{1c}において、全例解析では対照食品群と比較して、被験食品群の変化量に有意な変動は認められなかった。今回の治験では摂取期間が4週間と短かったため、1~3ヶ月前の血糖値と相関するHbA_{1c}に有意な変化が現れなかったと考えられる。

過去1~2週間の血糖値と相関する糖化アルブミンにおいて、被験食品群の変化量（前観察期間終了後—摂取4週間後）は、対照食品群と比較して糖化アルブミン値が有意に低かった（被験食品群： -0.56 ± 1.27 対照食品群： 0.28 ± 0.88 , $p < 0.05$ ）。

また、医師の診察や臨床検査等で臨床問題となる所見は見られなかった。

5. おわりに

低利用の畜産資源である親鶏皮部は、SMの供給源として有望であることが確認できた。SMの機能として、脂肪肝の改善、高コレステロール血症の改善、高血糖症状の改善が期待でき、SMを1食当たり10mg含む試験食品は、軽度~中等度の高脂血症或いは高血糖の方の食事改善に有効な食品であることが示唆された。

参考文献

- 1) Yunoki, K. et al. (2008), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 427-433
- 2) Mawatari, S. et al. (2009), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73, 2621-2625
- 3) Yunoki, K. et al. (2008), *Lipids*, 43, 151-159
- 4) Yunoki, K. et al. (2010), *J. Agric. Food Chem.*, 58, 7030-7035