

数の子の栄養機能性（本年度研究成果報告書）

北海道大学・大学院水産科学研究院機能性物質化学研究室
宮下和夫

1. 昨年度までの結果

- 1) カズノコ油はコレステロールを含むためその悪影響も懸念された。しかし、ラット及びマウスを用いた検討では、カズノコ油に多く含まれるEPAやDHAの効果によりコレステロールの増大は見られないことが確認された。
- 2) また、カズノコ油中のEPAやDHAはリン脂質の形態で存在するため、通常の魚油に存在するDHAやEPAよりも吸収されやすく、その結果、中性脂肪の低下作用や抗肥満作用がより顕著に現れた。
- 3) さらに、カズノコ油投与では、アラキドン酸の減少量とEPAの増加量が、カズノコ油と同量のEPAおよびDHAを含む魚油TAGに比べて有意に大きかった。こうした結果も、カズノコ油中のEPAが魚油TAG中のEPAよりも吸収されやすいことに起因していると思われた。
- 4) カズノコ油にはカロテノイド色素（ルテイン）とCoQ10といった微量の機能性成分も含まれていた。
- 5) カズノコ油はDHAやEPAを多く含むにもかかわらず、他の魚油とは異なり酸化安定性が非常に高かった。これは、カズノコ油の主成分がリン脂質であることと、ルテインなどの抗酸化物質を含むことに起因するものと思われた。

2. 本年度の検討内容

1) カズノコタンパク質の機能性

カズノコ中のタンパク質含量は脂質含量よりも高いが、その機能性についてはこれまでほとんど検討されていなかった。そこで、本年度は、カズノコタンパク質の栄養効果、特に、カズノコ油と組み合わせた時の抗肥満作用について、ラットやマウスを用いた動物実験を行った。また、カズノコタンパク質を加水分解した際に得られるペプチドの機能性についても検討した。

2) カズノコに含まれる微量の機能性脂溶成分

カズノコに含まれるCoQ10の機能性、特に、カズノコ油のようにDHAやEPAを多く含む脂質と共に存した場合の機能性について明らかにした。

3. 実験方法

1) 動物実験の方法 (カズノコタンパク質)

- ①タンパク質の調製：カズノコからエタノールを用いて脱脂を行った。得られた脂質画分をカズノコ油とし、残渣をカズノコタンパク質とした。
- ②カズノコタンパク質のマウスに対する投与試験：マウスには 7 週齢の C57cl/6J マウス（雄）を用いた。飼料は AIN-93G の組成に従って調製した。まず、予備飼育を 15 日間行った後、20% 大豆油投与（高脂肪食）にて 19 日間飼育した。ついで、成長に異常のない個体を各群 7 匹ずつ、平均体重および体重のばらつきが同等になるように群分けを行った。群ごとに滅菌ウッドチップの床敷を入れたプラスチックケージにて飼育した。飼育温度は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度は 50%、明暗期を 12 時間周期とした。飼料および水は自由摂取とし、表-1 に示すような脂質組成とタンパク組成にて 21 日間飼育を行った。飼料に混合する脂質は窒素置換をした容器中で -20°C にて保存し、2 日ごとに飼料成分と脂質成分を混合し、実験飼料の調製を行った。
- ③解剖と臓器の摘出及び分析：12 時間の絶食の後、エーテル麻酔下で開腹し頸動脈より採血を行った。臓器は採血後直ちに摘出し、冷生理食塩水による灌流を行い十分に脱血した。各臓器は秤量の後、分析を行うまで -70°C にて保存した。
- ④血漿脂質の分析：ラット血漿中の総コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセライド、過酸化脂質含量などはキットを用いて分析した。
- ⑤なお、動物実験で得られた値は、平均値±標準偏差として表し、有意差は多重比較法のシェッフェの F 検定を用いて評価した。その際、有意水準は $P < 0.05$ とした。

2) 動物実験の方法 (CoQ10 と魚油の併用効果)

① Coenzyme Q10 の HPLC による定量

検量線作成に用いた Coenzyme Q10 (CoQ10) は日清ファルマより購入した。濃度の異なる CoQ10 のヘキサン溶液 ($0.5\text{--}2.5 \mu\text{M}$) を調製し、HPLC にその $10 \mu\text{L}$ または $100 \mu\text{L}$ を注入した。

HPLC の分析条件以下に示したとおりである。

装置：日立 L-7000

ポンプ：日立 L-7100

注入装置：日立 L-7200

検出器：日立 L-7400 UV 検出器

カラム：ODS-UG 5 (野村科学)

測定波長： 275 nm

移動相：メタノール：エタノール = 60 : 40

流速 : 1.1 ml / min

10 μ L および 100 μ L いずれの場合も CoQ10 量とピーク面積の間に良好な直線関係が認められた。

②マウスに対する投与試験: 9 週齢の ICR マウスは日本クレアから購入した。餌料の調製に用いた油脂以外の構成成分は日本クレアより購入した。飼料中の大豆油は和光純薬工業(株)より、ラードは昭和化学、HAYASHI CHEMICALS CO. Ltd より購入した。また魚油はカツオ由来の魚油中の DHA を濃縮したものを用いた。試験餌料は AIN-93G 組成にしたがって調製した。飼料中の脂質組成は表-2 に、脂肪酸組成は表-3 に示した。飼料は、調製後直ちに真空パックして給餌まで -20°C 下に保存した。1 週間対照群用の飼料により予備飼育を行い、成長に異常のない固体を各群 6 匹ずつ体重にばらつきがないように群分けした。滅菌ウッドチップ床敷を入れたプラスチックゲージに群ごとに 2 匹ずつ入れて飼育した。飼育室の温度は 23±1°C、湿度 50%、明暗を 12 時間周期とした。飼料及び水は自由摂取とし、3 週間実験試料による飼育を行った。

③解剖と臓器の摘出及び分析: 上記 1) の動物実験と同じ方法を用いた。

④血漿脂質の分析: 上記 1) の動物実験と同じ方法を用いた。

⑤脂質分析: 各組織 (約 0.5g) から Folch 法に従ってクロロホルム/メタノール混液により総脂質を抽出した。得られた総脂質に n-ヘキサンを加え 100g/L になるように濃度を調整後、HPLC に注入し、上記の条件で CoQ10 含量を測定した。

⑥なお、得られた値は、平均値±標準偏差として表し、有意差は上記 1) の動物実験と同じ方法を用いて算出した。

3. 結果

1) カズノコタンパク質の機能性

カズノコ中のタンパク質は水分 (80 %程度) について多く (16 %程度)、脂質の数倍含まれている。これまでにカズノコ油の高機能性は明らかにされたが、カズノコ由来タンパク質の生物活性については不明な点も多い。

そこで、まず、カズノコタンパク質あるいはカズノコペプチドの機能性検証のために、カズノコタンパク質のアミノ酸組成とカズノコペプチドの抗酸化性について検討した。カズノコタンパク質のアミノ酸組成は、図-1 に示した。主要なアミノ酸は、グルタミン、アラニン、ロイシン、アスパラギン、バリン、リジンなどであった。また、酵素を用いて調製したカズノコペプチドは図-2 に示したように抗酸化活性も示した。ペプチドの機能性 (抗炎症、抗肥満など) については今後興味が持たれる分野であり、今回得られた予備的結果は、カズノコの主要成分であるタンパク質の機能性を明らかにする上で有益な知見と考えられる。

える。

2) カズノコタンパク質とカズノコ油の脂質代謝制御機能

実験飼育後の体重および肝臓重量は各群で有意差はなかった。成長期の個体ではないが、高脂肪食で15日間飼育したため、最終的に各群共に、27gから30g程度まで体重が増加した。尚、実験飼育期間中は各群において摂餌量に差は認められなかった。

内臓の白色脂肪組織重量はコントロールと比較して、カズノコタンパク投与群、カズノコ油投与群、カズノコタンパク+カズノコ油投与群の順で低下した(図-3)。このことより、カズノコの脂質とタンパク質を組み合わせることによる抗肥満効果が期待できた。今後は、肥満病態マウスなどを用いた詳細な検討が必要と考えられた。

血中の総コレステロールの減少傾向もカズノコ油とカズノコタンパク+カズノコ油投与群で認められたが(図-4)、有意な減少はカズノコタンパク+カズノコ油投与群でのみ得られた。さらに、血中の中性脂肪含量もカズノコタンパク投与群、カズノコ脂質投与群、カズノコタンパク+カズノコ油投与群の順で低下した(図-5)。

以上より、カズノコタンパク質とカズノコ油の併用により脂質代謝改善作用と抗肥満作用がカズノコ油単独よりも顕著に現れることが明らかにされた。

2) C_oQ₁₀と魚油の併用効果

図-6と図-7に、C_oQ₁₀と魚油、大豆油またはラードをマウスに投与した血中の脂質含量について示した。魚油投与により、コレステロール(図-6)と中性脂肪(図-7)含量が低下した。一方、ラード+C_oQ₁₀群では、これらの値がいずれの場合も有意に増大した。このことは過剰のC_oQ₁₀摂取により、血中脂質の増大することを示している。しかし、魚油とC_oQ₁₀を共存させることにより、魚油単独よりもいずれの血中脂質もコントロールよりも減少することが示された。

以上より、C_oQ₁₀はDHAやEPAを含む魚油と共に存在することでその高脂肪摂取時における血中脂質の増大作用が起こらないこと、魚油の血清脂質改善作用がC_oQ₁₀の共存により効果的に示されることが初めて明らかになった。カズノコ油にはDHAやEPAを多く含む他、C_oQ₁₀も微量ながら含まれており、血中脂質の改善効果を伴ったカズノコ油の機能性が期待される。

図-8には肝臓脂質中に含まれるC_oQ₁₀含量を示した。投与したC_oQ₁₀含量が同量にもかかわらず、魚油と共に存在することにより、肝臓脂質中のC_oQ₁₀含有量は大豆油やラード群よりも増大した。魚油はC_oQ₁₀を元々含み、そのため、図-8に示したように、2群(魚油)のみはコントロールよりも肝臓中のC_oQ₁₀量は高い。しかし、3群(魚油+C_oQ₁₀)の4群(大

豆油+C o Q 1 0) または5群(ラード+C o Q 1 0)との差は、2群と3群の差より大きく、魚油存在により、C o Q 1 0の吸収量も増加すると推測できた。

5. 本年度の結果

本年度の研究により以下のことが明らかになった。

- 1) カズノコタンパク質は優れた機能性を示すことが明らかになった。
- 2) カズノコ油単独よりも、カズノコ油とカズノコタンパク質を併用することで、より高い抗肥満効果と血中脂質改善効果が得られた。
- 3) C o Q 1 0はカズノコ油のようなE P AやD H Aを多く含む魚油と共に存することでその悪影響(コレステロール増大)が抑制された。また、両者共存により優れた機能性も発揮できることが期待された。
- 4) すなわち、カズノコ油はD H AやE P Aを多く含むにもかかわらず、これらの脂質成分がカズノコタンパク質中に封入されているため安定だけでなく、カズノコタンパク質とカズノコ油両者の作用により非常に機能性の高い天然栄養カプセルであることが示された。