

研究課題：モノアルキルジアシルグリセロールによるコレステロール代謝制御機構の解明

北海道大学大学院水産科学研究所

准教授 別府史章

【背景・目的】

モノアルキルジアシルグリセロール (MADG)は、深海性魚介類や底生生物に豊富なエーテル型中性脂質である。構造的に、一般的な油脂成分のトリアシルグリセロール (TG) *sn*1位の脂肪酸エステルがエーテル結合を介した長鎖脂肪族アルコールになった特徴を持つ。MADG はサメ肝油に含まれ食経験は豊富だが、その食品機能学的な意義は不明な点が多く残されている。一方、我々は MADG 高含有の深海性のドスイカ (*B. magister*)肝臓脂質の肥満糖尿病モデルマウスにおける血中コレステロール低減効果を明らかにしている。興味深いことに、ドスイカ肝臓脂質による効果は、エイコサペンタエン酸 (EPA)やドコサヘキサエン酸 (DHA)を等量含む魚油 TG よりも有意に強く、MADG の特徴的な構造に起因するコレステロール代謝制御作用が推察された。本研究では、MADG による脂質代謝制御作用について、食事誘導性の高コレステロール血症モデルを用いた機能評価を目的とした。

【材料および方法】

試料の MADG はドスイカ肝臓から調製した。すなわち、クロロホルム/メタノール (1:2, v/v)混液でドスイカ肝臓の総脂質を抽出した後、シリカゲルクロマトグラフィーに供しヘキサンジエチルエーテル(80:20, v/v)で分画をした。得られた MADG 画分はクロロホルム/メタノール/水 (1:1:0.9, v/v/v)で液-液分配し下層の脂質画分を濃縮して使用した (MADG : 89.7%, w/w)。8 週齢の雄性 C57BL/6J マウスに AIN-93 を基本組成とする標準飼料にコレステロール、コール酸、ヤシ油を添加した高コレステロール血症誘導食を 2 週間摂取させた。MADG 群には飼料の脂質源である大豆油の一部を得られた MADG 画分と置換して飼料中の 0.5%あるいは 1.0%となるよう与えた。試験終了後、血清および各種臓器脂質および遺伝子発現解析によりコレステロール代謝への影響を中心に分析した。なお、本研究の動物実験は北海道大学動物実験指針に基づいて実施された。

【結果および考察】

通常食摂取群と比較し高コレステロール食 (HCD)摂取群では、血清中の総コレステロール、非 HDL コレステロール濃度の顕著な上昇、HDL-コレステロール濃度の低下が認められ、高コレステロール血症の誘導が確認された。この条件下、MADG を 0.5%あるいは 1.0%含む飼料で飼育したマウスでは、HCD 食群と比較し血清中総コレステロール濃度の低下傾向あるいは有意な低下が認められ、本モデルにおける高コレステロール血症予防効果が示された。また、MADG 添加食群では肝臓総脂質およびコレステロール量の低下傾向を示した。血中および肝臓中のコレステロール量低減効果と小腸でのコレステロール吸収の関連性を

調べるため、関連する遺伝子の発現解析を行った。通常食群と比較して HCD 群ではコレステロール輸送体 Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) mRNA の有意な発現低下および腸管内腔への排出を担う ATP-binding cassette G5 (ABCG5)/ABCG8 の増加傾向を示した。MADG 群では NPC1L1 には影響がなかったが、ABCG5/8 mRNA は HCD 群よりもさらに発現が増加し、通常食群よりも有意に高い発現レベルを示した。この結果は、MADG 群では高コレステロール食に対する応答として排泄が促進傾向にあることを示唆し、いずれも HCD 群と有意な差ではないものの、高コレステロール血症予防効果に一部寄与すると考えられる。また、腸管から吸収されたコレステロールは Acetyl-Coa Acetyltransferase 2 (ACAT2) によるエステル化を受けカイロミクロンに取込まれた後にリンパ内へ放出され血中へ移行する。我々は以前の研究により、MADG 摂取した肥満/糖尿病モデルマウスにおいてカイロミクロン粒子数の減少を明らかにしている。この結果と一致し、本モデルにおいて小腸でのカイロミクロン合成に関わる SAR1b mRNA 発現量が MADG 摂取群では HCD 群よりもわずかながら有意に低く、リンパ管へ放出されるカイロミクロン合成抑制作用が示唆された。さらに、MADG 摂取がリポタンパクを構成するリン脂質組成へ及ぼす影響を考慮し、血中脂質および肝臓のリピドミクス解析を行った結果、MADG 摂取群では HCD 群と比較してアルキル鎖を分子内にもつアルキルアシル型、あるいはアルケニル鎖をもつプラスマローゲン型のホスファチジルコリン (PC) およびホスファチジルエタノールアミンの顕著な増加が認められた。肝臓や小腸でのリポタンパク合成において、細胞膜を構成する PC 分子の脂肪酸種による活性の違いが示唆されていることから、MADG 代謝を介したエーテル型リン脂質の増加による膜脂質組成変化の影響が推察された。さらに、MADG のコレステロール低下作用を幅広く探るため小腸における RNA-seq による発現変動解析を行った。GO 解析の結果から、MADG 群と HCD 群間での発現変動遺伝子群を複数確認することができたが、本実験においてコレステロール代謝との関連性を見出すには至らなかった。一方で、MADG の未知な機能性を明らかにする上で有用な発現変動遺伝子を確認することができたため、今後の機能解明研究へ活用したい。

以上、食事誘導性の高コレステロール血症モデルマウスにおける MADG 摂取による血中コレステロール低下効果が示された。その作用機構として腸管におけるカイロミクロンを介したリンパ内、血中へのコレステロール移行の抑制作用が一部関わる可能性が新たに示唆された。本研究により得られた成果は、MADG の新たな脂質代謝制御作用を示すとともに、未利用な水産資源の食品素材としての活用へ研究展開する上で有用なものとする。

#### 【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、ご支援を賜りました公益社団法人南北海道振興財団に御礼申し上げます。