

## ω 酸化脂肪酸を含有する油脂類の探索

西山裕子、石津隆、黒川真理恵、松本愛、安保千賀子、菊田安至

肥満は現在世界規模で増加し、種々の疾病リスクになる他、生活の質 (QOL) にも影響を与え、その予防や改善が必要である。食事から摂取した脂肪は脂肪酸に分解され、主にβ酸化により代謝されるがその側副経路にω酸化がある。脂肪酸のω酸化物はペルオキシソームのβ酸化経路で優先的に代謝され、さらにω酸化物がPPARαのリガンドとなる。そのため、ω酸化系の活性化により脂質代謝が活発化することで、肥満防止効果が期待できる。本研究では、食物中のω-ヒドロキシ脂肪酸をはじめとするω酸化物が持つ生体に対する機能の解明を目的に、油脂中のω酸化物の濃度を検討した。

動物性7種、植物性38種の合計45種の油脂をアルカリ加水分解の後、脂肪酸を分離精製し、LC-MSを用いて定量分析を行った。同時に12-ヒドロキシラウリン酸、16-ヒドロキシパルミチン酸、16-ケトパルミチン酸、ジカルボキシパルミチン酸、12-HETEについては定量化を行った。

分析したほぼ全ての油脂でω水酸化物の存在を確認した。中でも最も多量に検出されたのは、16-ヒドロキシパルミチン酸であった。一方、16-ケトパルミチン酸とジカルボキシパルミチン酸は一部の油脂に少量含まれていた。ジカルボン酸は牛脂や菜種油に僅かに検出され、アルデヒド体は大豆油やひまわり油でごく僅かに含まれていた。しかし、その量とパルミチン酸量との相関性は無く、ω酸化物の濃度は、油脂原料のω水酸化酵素活性に起因すると考えられた。ヒマシ油にはオレイン酸の水酸化体が見られたが、これはリシノール酸と推定される。

キーワード：油脂、脂質代謝、ω酸化、ω酸化脂肪酸

### 序 論

現在、脂肪の蓄積に起因する疾病の増加が懸念されている。運動不足や過食、遺伝的要因などにより脂肪の過剰な蓄積が生じ、その結果、高血圧や糖質代謝異常、脂質代謝異常などのリスクが高くなる<sup>1)</sup>。脂肪は、食品から摂取され体内に蓄積するものと、過剰摂取した糖質から合成されるものがある。糖質の一部はエネルギー源としてグリコーゲンの形で貯蔵されるがその量には限界があり、余剰の糖質は肝臓並びに脂肪組織でトリアシルグリセロールに変換され、そして脂肪組織に蓄えられている<sup>2)</sup>。その一方で、脂肪組織では必要時にトリアシルグリセロールを分解して脂肪酸を血中に放出し、各組織に運搬されてβ酸化系およびTCA回路でエネルギー代謝の基質として利用される<sup>2)</sup>。

脂肪酸のω末端を酸化するω酸化は、1934年にVerkabeらがヒトの尿中にジカルボン酸を発見したのを機に提唱された<sup>3)</sup>。ω酸化は脂肪酸分解のための一経路であると同時に、この経路の代謝産物が多様な生理機能を持っていることが明らかとなっている。脂肪酸がω水酸化されたω-ヒドロキシ酸はセラミド合成に利用される他、20-ヒドロキシアラキドン酸(20-HETE)はNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaseの機能調節

〒729-0292 福山市学園町1番地三蔵 福山大学生命工学部生命栄養科学科

Tel: +81-84-936-2111, Fax: +81-84-936-2023, E-mail: nishiyama@fukuyama-u.ac.jp

に働いたり、ガン細胞増殖を抑制したりするなどの作用がある<sup>4)</sup>。さらに $\omega$ 酸化物が、細胞内受容体の一種である PPAR $\alpha$  のリガンドとなる事で脂質代謝を活性化する機能を持ち、脂肪酸分解の活性化並びに生体の機能調節に関係していると考えられる<sup>5,6)</sup>。

これまでの当研究室の実験より、ヒト及びラットの血清や臓器の脂質中に 1 %程度の 16-ヒドロキシパルミチン酸が含まれていることが明らかとなった<sup>7)</sup>。そのため、動物性油脂には 16-ヒドロキシパルミチン酸が少量含まれていると考えることができる。一方で植物には表皮のクチクラ層を構成するのに脂肪酸の重合体であるクチンや、非水溶性の脂肪酸エステルのワックスが多量に存在する。この脂肪酸の重合やエステル化は、植物のシトクロム P450 (CYP86A、CYP94A) による脂肪酸モノマーの酸化と $\omega$ 酸化系でのジカルボン酸化が関わっている<sup>8)</sup>。そのため、高いジカルボン酸の産生能力を有する植物は、その油脂中に多量のヒドロキシ酸を含んでいる可能性があり、 $\omega$ 酸化物の生理機能を引き出すことが期待できる。

しかし、植物性油脂中の 16-ヒドロキシパルミチン酸をはじめとする $\omega$ 酸化脂肪酸量の含有量に関する詳しい報告はない。そこで、本実験では $\omega$ -ヒドロキシ酸をはじめとする $\omega$ 酸化脂肪酸の生理活性作用が期待できる油脂を見つけることを目的に、油脂中の各種ヒドロキシ脂肪酸の存在比を分析した。

## 方 法

### 1. 試料

#### 1-1 使用油脂

分析は、表 1 に示した市販の 45 種類の油脂 (植物性油脂 38 種、動物性油脂 7 種) について行った。

#### 1-2 分析用試薬

TLC 用スタンダードは、トリアシルグリセロール (SIGMA-ALDRICH)、コレステロール (ナカライテスク)、パルミチン酸 (ナカライテスク)、16-ヒドロキシパルミチン酸 (東京化成工業) の各 10 mg を 10 ml のエタノールで溶解した。プリムリン試薬は、アセトン (関東化学) : 超純水 = 160 : 40 の混合液 200 ml にプリムリン (ナカライテスク) を 0.02 g 加えて溶解して作製した。LC-MS 用溶媒 A 液は、アセトニトリル (LC-MS 用) : 超純水 : 酢酸 (LC-MS 用) = 45 : 55 : 0.1 の比率で溶液を調製した。LC-MS 用溶媒 B 液は、アセトニトリル : 酢酸 = 100 : 0.1 の比率で溶液を調製した。LC-MS 用スタンダードは、マルガリン酸 (>98% SIGMA-ALDRICH) を 0.0348 g、パルミチン酸 ( $\geq$ 99.5% 和光純薬工業) を 0.0678 g、ミリスチン酸 (99% ナカライテスク) を 0.0603 g、ラウリン酸 (99% 和光純薬工業) を 0.0534 g、16-ヒドロキシパルミチン酸 (98% SIGMA-ALDRICH) を 0.0681 g、及び 12-ヒドロキシラウリン酸 (97% 和光純薬工業) を 0.0594 g それぞれ量り取り、メタノールを 5 ml 加え、50 mM の溶液を作製した。これらから各 100  $\mu$ l ずつ取り、メタノールを 4.9 ml 加え攪拌し 1 mM の溶液を作製した。さらにそこから 1 ml をメタノールで 10 倍に希釈して 0.1 mM に調製した。

実験に使用したその他のすべての試薬は、特級または生化学用のものを用いた。

ω酸化脂肪酸を含有する油脂類の探索

表 1 分析油脂一覧

油脂一般名	原材料名	商品名	製造業者または販売者
1 菜種油	アブラナ種子	D-PRICE キャノーラ油	ディープライス
2 ごま油	ゴマ種子	かどやの純正 ごま油	かどや製油
3 大豆油	大豆胚芽	味の素 健康サララ	J-オイルミルズ
4 コーン油	とうもろこし胚芽	味の素 胚芽の恵み コーン油	J-オイルミルズ
5 紅花油 (サフラワー油)	紅花種子	すっきりおいしい 日清べに花油	日清オイリオグループ
6 米油	米ぬか層	風味豊かなおいしさ 日清おいしい米油	日清オイリオグループ
7 綿実油	綿実種子	贅沢な風味 日清綿実油	日清オイリオグループ
8 グレープシード油	ぶどう種子	日清ピュアグレープシードオイル	日清オイリオグループ
9 アマニ油	亜麻種子	アマニ油 Golden Flaxseed Oil	日本製粉
10 エゴマ油	荳胡麻種子	荳胡麻油 機械圧搾法一番搾り	紅花食品
11 ココナッツ油	ココヤシ胚乳	ORGANIC EXTRA VIRGIN COCONUT OIL	紅花食品
12 パーム油	アブラヤシ果肉	カロチーノ プレミアム	イエナ商事
13 ヒマワリ油	ヒマワリ種子	Sunflower oil MAMRUKO	ジャパンワールドトレーディング
14 オリーブ油	オリーブ果実	BOSCO Premium エクストラバージンオリーブオイル	日清オイリオグループ
15 アボカド油	アボカド果実	ROCIO DEL BOSQUE High Quality Avocado Oil Premium Hydro-Pressed	ミツコムトレード 24
16 インカインチ油 (サチャインチ油)	インカインチ (インカグリーンナッツ)	INCA GREEN NUTS INCA INCHI OIL	アルコリスカンパニー
17 マカダミアナッツ油	マカダミアナッツ種子	Elysian Isle Gourmet Macadamia Nut Oil	協同食品
18 アーモンド油	アーモンド種子	Sweet Almond Oil	鈴商
19 チアシード油	チアシード種子	PREMIUM Chia Seed Oil	金ごま本舗
20 くるみ油	クルミ種子	TOMIZ くるみ油	富澤商店
21 アルガン油	アルガン種子	エキストラヴァージンピュアルガンオイル 100% (ロースト)	日本緑茶センター
22 ヒマシ油	ヒマ (トウゴマ) 種子	Castor oil	和光純薬工業
23 ホホバ油	ホホバ種子	Jjoba oil	和光純薬工業
24 レモン油	レモン果皮	Oil of lemon	SIGMA-ALDRICH
25 チョウジ油	チョウジ蕾または葉	Clove oil	和光純薬工業
26 ベルガモット油	ベルガモット果皮	Bergamot oil	和光純薬工業
27 ウイキョウ油	ウイキョウ果実	Fennel oil	東京化成工業
28 ローズヒップ油	ローズヒップ種子	Rose hips oil	和光純薬工業
29 ククイナッツ油	ククイ種子	Kukui nut oil	和光純薬工業
30 ユーカリ油	ユーカリ葉	Eucalyptus oil	和光純薬工業
31 オレンジ油	オレンジ果皮	Orange oil	和光純薬工業
32 ツェーデル油 (セダー油)	マツ科 juniper's, virgin 心材	Cedar oil	和光純薬工業
33 テレピン油	松樹液	Turpentine oil	和光純薬工業
34 ラベンダー油	ラベンダーの花と葉	Lavender oil	SIGMA-ALDRICH
35 パーシク油	あんずまたは桃の種子	Persic oil	和光純薬工業
36 オリガナム油	オリガナムの葉	Origanum oil	和光純薬工業
37 メドゥフフォーム油	メドゥフフォーム種子	Meadowfoam seed	和光純薬工業
38 ローズマリー油	ローズマリーの葉	Oil rosemary	和光純薬工業
39 バター	生乳	雪印北海道バター 食塩不使用	雪印メグミルク
40 ラード	豚脂	雪印 純正ラード	雪印メグミルク
41 牛脂 (ヘット)	牛脂	国産牛 牛脂	日本ピュアフード
42 魚油 (カツオ)	かつお油	DHA46-RD	池田精化工業
43 魚油 (マグロ)	ピンナガマグロ	鮪の油	FLF
44 タラ肝油	タラ肝臓	Cod liver oil	和光純薬工業
45 シールオイル	アザラシ油	Seal oil S0483	東京化成工業

2. 実験方法

2-1 油脂の希釈

各種油脂を、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム、エタノールまたはメタノールに溶かし、一番溶解度が良かったものを希釈溶媒として用いた。酢酸エチルはユーカリ油、ローズヒップ油、パーシク油、ラベンダー油、メドゥフフォーム油及びオリガナム油の、エタノールはヒマシ油の、クロロホルムはツェーデル油の希釈に用いた。その他の油脂はすべてヘキサンにより希釈した。各油脂 0.5 ml を上記の溶媒で 10 倍に希釈 (v/v) した。

## 2-2 油脂のアルカリ加水分解

希釈した油脂試料 10  $\mu$ l の溶媒を除去後、0.1 N 水酸化ナトリウム/95%メタノール溶液を 2 ml 加え、ボルテックスミキサーで攪拌し 60  $^{\circ}$ C に設定したブロックヒーターで 1 時間加水分解を行った。室温に冷ました後、クロロホルムを 2 ml、メタノールを 1 ml、超純水を 1.7 ml、上層の pH が 1.0 以下になるように 6 N 塩酸を加え、攪拌した。室温で 3000 rpm、室温、5 分間の遠心分離を行い、下層のクロロホルム層を回収した。残った上層にクロロホルムを 2 ml 加えて攪拌の後、再度遠心分離を行った。回収した下層を合わせて、溶媒を取り除いた。

## 2-3 試料の精製

アルカリ加水分解を行った試料を 100  $\mu$ l のメタノールで溶解し、全量を薄層クロマトグラフィー (TLC) 用シリカゲルプレート (シリカゲル 60 (20 $\times$ 20cm) メルク株式会社) 上に塗布した。シリカゲルプレートを展開槽に入れ、ジエチルエーテル：ヘキサン：酢酸 = 80 : 20 : 1 混合液で展開した。プレートを乾燥させてプリムリン試薬を用いて分離を確認し、必要なバンドをかきとりメタノールにより脂質を回収した。

## 2-4 LC-MS 分析

分離・精製した試料を 1 ml のメタノールに溶解し、50  $\mu$ l をバイアル (1 ml 透明トータルリカバリーバイアル MSCERT5000-39TR、ジューエルサイエンス株式会社) に入れ、逆相クロマトグラフィー用カラム (BDS HYPERSIL C18 (2.1 $\times$ 250 mm) Thermo Fisher Scientific (マサチューセッツ州アメリカ)) を用いて LC-MS 分析装置 (Waters 2695 Separations Module K04SM4911M、Quattro micro、日本ウォータース株式会社) により以下の条件で分析を行った。

カラム：逆相クロマトグラフィー用カラム BDS HYPERSIL C18 (2.1 $\times$ 250 mm)

カラム温度：40  $^{\circ}$ C

溶液 A：アセトニトリル：超純水：酢酸 (45 : 55 : 0.1)

溶液 B：アセトニトリル：酢酸 (100 : 0.1)

流速：0.5 ml/分

グラジエント：時間	A 液 (%)	B 液 (%)
0 分	100	0
10 分	80	20
20 分	0	100
25 分	0	100
26 分	100	0

検出器：SIR

モード：ES-

## 3-4 検量線の作成

当研究室の黒川が先に作製した 16-ケトパルミチン酸標準物とジカルボキシパルミチン酸標準物<sup>9)</sup>、並びに市販の 12-ヒドロキシラウリン酸、16-ヒドロキシパルミチン酸及び 20-HETE ( $\geq$ 90% SIGMA-ALDRICH) を用いて LC-MS 分析の検量線を作成した。標準試薬を 0~1000  $\mu$ g/ml に段階希釈し、2-4

の方法で分析を行い、得られた試料のピーク面積と試料濃度をグラフ化した。

## 結果

アルカリ加水分解後の油脂試料を薄層クロマトグラフィー（TLC）により精製を行った結果の例を図 1 に示す。ω 酸化脂肪酸が含まれる下段と遊離脂肪酸を含む上段からそれぞれ脂質を回収した。

分析した油脂の中でヒマシ油のヒドロキシ脂肪酸と遊離脂肪酸の LC-MS 分析結果のチャート例を図 2 に示した。ヒマシ油では、 $m/z$  271 の 16-ヒドロキシパルミチン酸のピークが 8.36 分に見られた他、 $m/z$  297 のヒドロキシオレイン酸、 $m/z$  295 のヒドロキシリノール酸、 $m/z$  293 のヒドロキシリノレン酸のピークがそれぞれ検出された。一方で、16-ケトパルミチン酸や、ジカルボキシパルミチン酸、20-HETE などのピークは確認できなかった。

45 種の油脂をそれぞれ 3 回分析して得られた結果を表 2 に示した。いずれの油脂も 16-ヒドロキシパルミチン酸が多く検出され、ヒドロキシミリスチン酸やヒドロキシリノール酸が少量検出された。また 12-ヒドロキシラウリン酸、16-ケトパルミチン酸、ジカルボキシパルミチン酸は一部の油脂でごく僅かに確認された。表には示していないが、20-HETE、ヒドロキシ EPA、ヒドロキシ DHA は動物性の油脂を含めてどの油脂からも検出されなかった。

ヒマシ油では、ヒドロキシオレイン酸のピーク面積は 21,216,983 で、ヒドロキシリノール酸のピーク面積はその 1/200 以下の 100,644 であった。油脂の脂肪酸組成はオレイン酸が 3.9%、リノール酸が 5.2% であり<sup>10)</sup>、それぞれのヒドロキシ体の濃度比とは一致しなかった。

パーシック油は他の油脂と比べて、16-ヒドロキシパルミチン酸が多量に含まれていた。パーシック油の主原料である桃の種子には、リノール酸が 44.6~49.6%、パルミチン酸が 24.2%、そしてオレイン酸が 13.6~19.6% 含まれているとされているが<sup>11)</sup>、16-ヒドロキシパルミチン酸以外のヒドロキシリノール酸やヒドロキシオレイン酸などは検出されなかった。

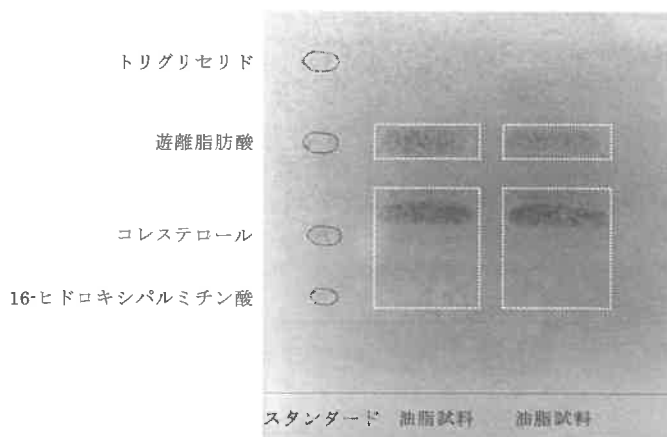


図 1 薄層クロマトグラフィー（TLC）による油脂の精製結果例



図2 ヒマシ油から分離した脂肪酸のLC-MS分析チャート

また、スケトウタラの肝油にはEPAが12.6%、DHAが6.0%含まれ<sup>12)</sup>、その $\omega$ 水酸化物についても魚油に多く含まれていると期待されたが、ヒドロキシDHA並びにヒドロキシEPAは検出されなかった。

本実験で調査した全ての油脂において、いずれかの種類のヒドロキシ脂肪酸を1種類以上含有することが確認された。ほぼ全ての油脂(43種)で検出されたのは16-ヒドロキシパルミチン酸であり、次いで比較的多く検出されたのはヒドロキシオレイン酸であった。またヒドロキシミリスチン酸は綿実油に、ヒドロキシステアリン酸は菜種油に、ヒドロキシリノール酸はグレープシード油やヒマシ油などで多く検出された。

スタンダード試料が入手できた12-ヒドロキシラウリン酸、16-ヒドロキシパルミチン酸、20-HETE、16-ケトパルミチン酸及びジカルボキシパルミチン酸を用いて作成した検量線を図3に示した。各油脂で検出された12-ヒドロキシラウリン酸、16-ヒドロキシパルミチン酸、16-ケトパルミチン酸を検量線から定量化した結果を図4に示した。

ω 酸化脂肪酸を含有する油脂類の探索

表 2 LC-MS 分析による油脂の各脂肪酸組成 (ピーク面積) (n=3)

No	試料	12-ヒドロキシ ラウリン酸	ヒドロキシ ミリスチン酸	パルミチン酸	16-ヒドロキシ パルミチン酸	16-ケト パルミチン酸	ジカルボキシ パルミチン酸	ヒドロキシ ステアリン酸	ヒドロキシ オレイン酸	ヒドロキシ リノール酸	ヒドロキシ リノレン酸
1	菜種油	-	64	730,870	14,977	186	288	2,952	2,077	685	750
2	ごま油	399	119	405,308	1,582	-	102	-	423	87	-
3	大豆油	-	326	1,244,521	4,917	569	-	-	15,048	762	-
4	コーン油	-	-	1,000,333	44,445	-	-	-	3,232	-	-
5	紅花油	-	400	2,109,514	2,198	-	-	-	5,538	748	-
6	米油	-	240	4,851,522	8,393	-	-	-	-	-	-
7	綿実油	-	3,563	3,990,092	4,707	-	-	2,371	42,694	-	-
8	グレープシード油	-	2,381	1,059,854	2,314	-	-	-	-	156	-
9	アマニ油	-	-	777,110	8,754	-	-	-	6,469	66,577	-
10	エゴマ油	-	1,225	780,636	4,815	-	-	-	-	6,365	-
11	ココナッツ油	-	-	4,045,092	5,628	-	-	-	-	451	-
12	パーム油	-	-	14,198,100	2,647	-	-	-	-	200	-
13	ヒマワリ油	-	-	1,697,624	6,067	488	-	-	10,281	498	-
14	オリーブ油	-	260	179,112	94,923	-	-	-	73	-	573
15	アボカド油	-	-	1,067,452	5,107	-	-	-	3,935	203	-
16	インカインチ油	-	-	4,083,302	3,675	-	-	-	2,843	-	-
17	マカダミアナッツ油	-	46	919,211	12,082	-	-	-	-	-	-
18	アーモンド油	-	694	4,254,859	2,263	232	-	-	3,063	370	1,344
19	チアシード油	-	-	1,016,024	3,104	-	-	-	-	1,860	-
20	くるみ油	-	-	1,162,992	2,841	-	-	-	-	-	-
21	アルガン油	-	-	1,055,301	3,426	-	-	-	6,776	-	-
22	ヒマシ油	-	-	792,686	6,305	-	-	-	21,216,983	100,644	22,149
23	ホホバ油	-	-	300,728	13,822	-	-	-	6,637	-	-
24	レモン油	-	-	288,890	1,191	-	-	-	-	-	-
25	チョウジ油	-	-	462,578	2,700	-	-	-	7,482	-	-
26	ベルガモット油	-	-	569,393	2,680	-	-	-	-	-	-
27	ウイキョウ油	-	-	358,377	1,736	-	-	-	-	-	-
28	ローズヒップ油	-	-	724,488	-	-	-	-	2,968	-	-
29	ククイナッツ油	-	-	1,192,168	16,151	-	-	-	10,620	-	-
30	ユーカリ油	-	-	401,275	10,091	-	-	-	-	-	-
31	オレングジュ	-	-	1,027,200	4,524	-	-	-	-	-	-
32	ツェーデル油	-	-	118,626	-	-	-	-	-	-	-
33	テレピン油	-	-	1,021,466	3,588	-	-	-	-	-	-
34	ラベンダー油	-	-	1,219,340	5,214	-	-	-	7,070	-	-
35	バーシック油	-	-	1,109,851	27,832	-	-	-	-	-	-
36	オリガナム油	-	-	890,020	5,910	-	-	-	2,531	-	-
37	メドゥフオーム油	-	-	760,613	-	-	-	-	-	-	-
38	ローズマリー油	-	-	838,207	5,589	-	-	-	149,423	-	-
39	バター	-	-	2,282,016	4,778	224	-	-	-	-	-
40	ラード	2,363	-	3,082,076	6,215	-	61	-	1,214	-	-
41	牛脂 (ヘット)	-	-	6,907,103	19,839	-	508	-	-	-	-
42	魚油 (カツオ)	-	99	1,273,356	10,986	85	-	915	-	-	-
43	魚油 (マグロ)	-	-	872,459	2,976	-	-	-	-	-	-
44	タラ肝油	-	-	1,219,233	3,712	-	-	-	-	-	-
45	シール油	-	-	486,507	6,269	-	-	-	-	-	-

- : 検出されず

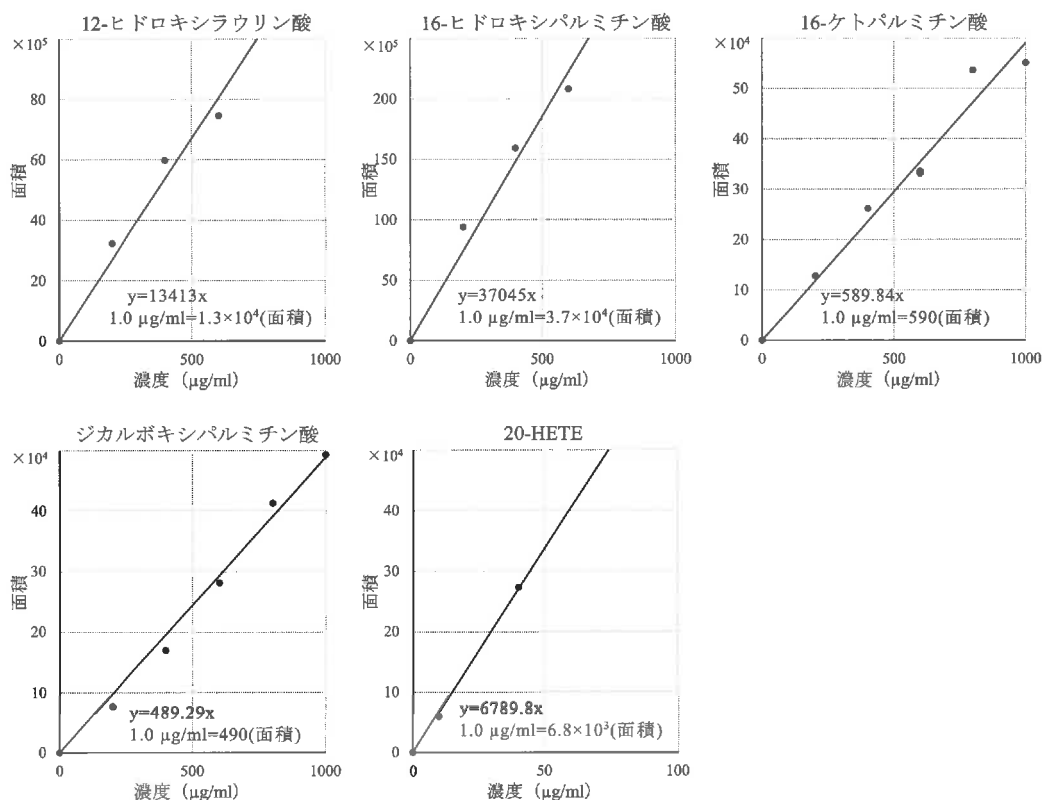


図3 LC-MS分析による $\omega$ 酸化脂肪酸物の検量線

12-ヒドロキシラウリン酸は、ラードに 229.24 µg/ml、菜種油に 38.67 µg/ml 含まれており、他の油脂からは検出されなかった。16-ヒドロキシパルミチン酸は多くの油脂で検出されたが、最も多量に含まれていたのはオリーブ油で 2325.61 µg/ml であった。次いでコーン油が 1088.90 µg/ml であった。動物性油脂では牛脂 (486.05 µg/ml) であった。パルミチン酸に対する 16-ヒドロキシパルミチン酸の割合 (面積比) は、オリーブ油が 53.0%、コーン油が 4.44%、ホホバ油 4.60%、パーシク油 2.51%、牛脂 0.29%と、ばらつきが見られた。

16-ケトパルミチン酸は6種類の油脂からごく僅かに検出され、その中でも比較的多く含まれていたのは大豆油で 3.10 µg/ml、ヒマワリ油で 2.67 µg/ml であり、動物性油脂ではバターで 1.22 µg/ml であった。また、16-ヒドロキシパルミチン酸に対する 16-ケトパルミチン酸の割合 (濃度比) は、大豆油 2.58%、ヒマワリ油 1.79%、アーモンド油、2.28%、バター1.04%であった。

ジカルボキシパルミチン酸はごく僅かに4種類の油脂 (牛脂 : 3.11 µg/ml、菜種油 : 1.77 µg/ml、ごま油 : 0.63 µg/ml、ラード : 0.37 µg/ml) に含まれていることが確認された。16-ヒドロキシパルミチン酸に対するジカルボキシパルミチン酸の割合 (濃度比) は、ごま油 1.61%、牛脂 0.64%、菜種油 0.48%、バター0.24%であった。また動物性油脂のラードやバターには 0.1%程度のアラキドン酸が含まれているが<sup>13)</sup>、その $\omega$ 水酸化物である 20-HETE はいずれの油脂からも検出されなかった。



ω 酸化脂肪酸を含有する油脂類の探索

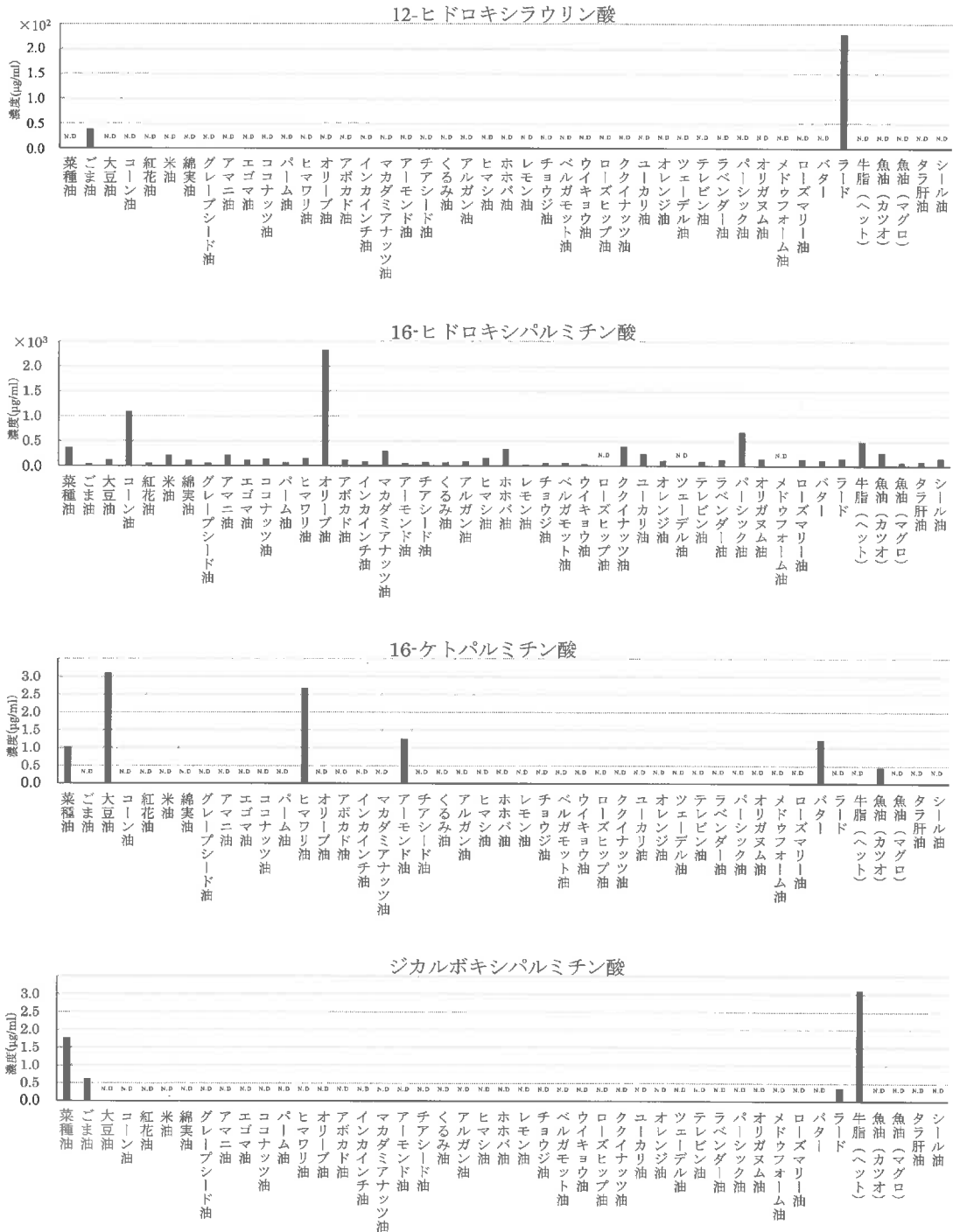


図4 油脂中の ω 酸化脂肪酸濃度

## 考 察

本実験で分析した全ての油脂中に1種類以上のヒドロキシ脂肪酸を含有していることが確認された。その中でも、ほぼ全ての油脂が16-ヒドロキシパルミチン酸を含有しており、特にオリーブ油、コーン油、パーシク油に多く含まれていた。しかし、16-ケトパルミチン酸及びジカルボキシパルミチン酸が検出された油脂の種類は少なく、その含有量も僅かであった。

パルミチン酸が $\omega$ 酸化経路により $\omega$ 酸化されると、16-ヒドロキシパルミチン酸、ケトパルミチン酸、ジカルボキシパルミチン酸の順に $\omega$ 水酸化物が生成される。しかし、本実験ではパーム油のように多量の16-ヒドロキシパルミチン酸が確認された油脂においても、ケトパルミチン酸並びにジカルボキシパルミチン酸はほぼ検出されず、さらにパルミチン酸に対する16-ヒドロキシパルミチン酸の存在比もばらつきがあり、植物性、動物性油脂関係なく一定の関係性は確認されなかった。16-ケトパルミチン酸、ジカルボキシパルミチン酸を両方有する油脂は菜種油のみであった。このことから、 $\omega$ 酸化による脂肪酸の中間代謝物であるアルデヒド体やジカルボン酸は化学的に不安定であるか、あるいは植物内ではすぐに代謝されてしまう可能性が考えられる。その他の油脂においても、脂肪酸量とヒドロキシ脂肪酸量には一定の規則性は見られなかった。

16-ヒドロキシパルミチン酸以外で高頻度で確認できたヒドロキシ脂肪酸はヒドロキシオレイン酸であった。分析油脂中で特に高く含有されていたのはヒマシ油であり、ローズマリー油、綿実油、大豆油にも含有されていた。ヒマシ油は、オレイン酸の12位が水酸化されたリシノール酸を87.2%含有する<sup>10)</sup>。この脂肪酸は天然に存在する代表的な水酸化脂肪酸であり<sup>3,14,15)</sup>、そのため、今回検出されたヒドロキシ酸はリシノール酸である可能性が高い。

EPA や DHA といった多価不飽和脂肪酸の水酸化体の存在が期待されたカツオ、マグロなどの魚油やタラ肝油からは、ヒドロキシEPA並びにヒドロキシDHAのピークは本実験では検出されなかった。これはn-3系脂肪酸のDHAやEPAなどの長鎖の多価不飽和脂肪酸の $\omega$ 酸化物は合成されにくい、あるいは、実験工程における脂肪酸の抽出・精製過程で酸化または変性した可能性が考えられる。

ヒドロキシ酸合計量(面積比)やパルミチン酸 $\omega$ 酸化物(16-ヒドロキシパルミチン酸、16-ケトパルミチン酸、ジカルボキシパルミチン酸)が比較的多い植物油脂の原料となる植物は、キントラノオ目のトウダイグサ科(ヒマシ油、ククイナツツ油)とアマ科(アマニ油)、シソ目のシソ科(エゴマ油、ローズマリー油、ラベンダー油)とモクセイ科(オリーブ油)さらにはイネ目イネ科(コーン油、米油)であった<sup>16)</sup>。そのため、トウダイグサ科、シソ科、並びにイネ科の植物は $\omega$ 酸化系が活発に働き、多量の $\omega$ 酸化物を合成し、脂質として蓄積する可能性が示唆された。

動物性油脂と植物性油脂とでは、そのヒドロキシ脂肪酸含有量に一定の傾向はみられなかったことから、 $\omega$ -ヒドロキシ酸量は、その油脂の原料となる生物自体が有する $\omega$ 水酸化酵素活性に依存すると予想された。

文 献

- 1) 厚生労働省 平成 26 年度厚生労働白書, 第 1 部 健康長寿社会の実現に向けて, 第 2 章 健康をめぐる状況と意識, p43-131 (2014)
- 2) Voet, D., Voet, J.G., and Pratt, C.W. 基礎生化学, p378-410 (2000)
- 3) Verkabe, P.E., and van der Lee, J. Research on fat metabolism. *Biochem.J.*, 28, 31-40 (1934)
- 4) Miura, Y. The biological significance of ω-oxidation of fatty acids. *Proc.Jpn.Acad., Ser.B*, 89, 370-381 (2013)
- 5) Uchida, Y. The role of fatty acid elongation in epidermal structure and function. *Dermato-Endocrinology*, 3, 65-69 (2011)
- 6) Behne, M., Uchida, Y, Seki, T., Montellano, P., Elias, P.M., and Holleran, W.M. ω-Hydroxyceramides are required for corneocyte lipid envelope (CLE) formation and normal epidermal permeability barrier function. *J. Invest. Dermatol.*, 114, 185-192 (2000)
- 7) Fukushima, N., Furukawa, M., Maeda, Y., and Kikuta, Y. Production of ω-hydroxy acids in rat liver and kidney. 16<sup>th</sup> International Conference on cytochrome P450 (abstracts), 69 (2009)
- 8) 水谷正治 シトクロム P450 の分子進化と植物の化学的多様性の獲得, 蛋白質核酸酵素, vol.52 No.12, p.1459 (2007)
- 9) 黒川真理恵 16-ヒドロキシパルミチン酸の ω 酸化代謝産物標準品の合成及び検量線の作成, 平成 28 年度卒業論文, P.11-13 (2016)
- 10) 日本油化学協会編 主要油脂の脂肪酸組成, 油脂化学便覧, p.109 (1990)
- 11) 竹永章生, 伊藤真吾, 露木英男 モモの種子および核の糖脂質およびリン脂質の化学的性状, 日本食品工業学会誌, Vol.30 No.6, p.349 (1983)
- 12) 日本油化学協会編 動物性油脂の脂肪酸組成, 油脂化学便覧, p.111 (1990)
- 13) 医歯薬出版編 日本食品成分表 (七訂) アミノ酸・脂肪酸・炭水化物編, p.207 (2016)
- 14) 岸野重信, 小川順 乳酸菌の新たな脂肪酸代謝 機能性脂肪酸生産と腸管内脂質代謝制御への展開, 化学と生物, Vol.51 No.11, p.741 (2013)
- 15) 戸谷洋一郎, 原節子 ヒドロキシ脂肪酸, 食物と健康の化学シリーズ 油脂の科学, p.28 (2015)
- 16) Cole, TCH., Hilger, HH., Stevens, PF., and Akitoshi, I. Japanese translation of the Angiosperm Phylogeny Poster - Flowering Plant Systematics, (2018)

\*\*\*\*\*  
Annu. Rep. Fac. Life Sci. Biotechnol.,Fukuyama Univ. (17), 21-32 (2018)

### Search for fats and oils containing $\omega$ -oxidized fatty acids

Yuko Nishiyama , Takashi Ishizu , Marie Kurokawa , Ai Matumoto , Chikako Abo and Yasushi Kikuta

Obesity, which is increasing on a global scale, leads to the risk of various diseases and reduces the quality of life (QOL). Prevention of obesity is very important for human health. Dietary fat is degraded by lipolysis to fatty acid, and is used as energy through  $\beta$ -oxidation. On the other hand, some fatty acids are processed by  $\omega$ -oxidation pathway.  $\omega$ -Oxidized fatty acids are primarily catabolized by peroxisomal  $\beta$ -oxidation pathway and can be ligands of PPAR $\alpha$ . Then activation of  $\omega$ -oxidation pathway, which stimulates lipid metabolism, is expected to be effective for preventing obesity. In this study, in order to assess the effect of  $\omega$ -oxidized fatty acids in foods on fat metabolism, we assessed the content of  $\omega$ -oxidized fatty acids in edible fats and oils.

Fatty acids were purified from 45 samples of oils or fats derived from seven animal and thirty eight plant materials after hydrolysis under alkaline conditions and investigated by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS). Five fatty acids, 12-hydroxyauric acid, 16-hydroxypalmitic acid, 16-ketopalmitic acid, dicarboxypalmitic acid and 20-hydroxyarachidonic acid (12-HETE), were quantitatively analyzed using molecular standards.

$\omega$ -Oxidized fatty acids were found in most of the samples analyzed in this study. 16-Hydroxypalmitic acid was detected in 43 samples. 16-Ketopalmitic acid and dicarboxypalmitic acid were contained in small amounts in some samples. Soybean oil and sunflower oil included aldehyde form, and beef tallow and rapeseed oil included dicarboxylic form. However, there was no correlation between the amounts of  $\omega$ -oxidized palmitic acids and palmitic acid, their starting material. This suggests that contents of  $\omega$ -oxidized fatty acid are affected by  $\omega$ -oxidation enzyme activity in raw materials. Hydroxyoleic acid found in castor oil is thought to be ricinoleic acid.

**Key word: Fats and oils, Lipid metabolism,  $\omega$ -Oxidation,  $\omega$ -Oxidized fatty acids**