総説

DHA の生理作用とその微生物生産

中原 東 郎

生命工学工業技術研究所 (〒305 つくば市東 1-1)

Physiological Activity of Docosahexaenoic Acid and Its Production by Microbial Culture

Toro NAKAHARA

National Institute of Bioscience and Human-Technology
(Higashi 1-1, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 〒305)

Docosahexaenoic acid (DHA) has recently attracted nutritional attentions through its specific function in brain/retina as well as beneficial effects of (*n*-3) polyunsaturated fatty acids. Firstly, the physiological activity of DHA is reviewed from recent publications, and compared to the activity of icosapentaenoic acid (IPA), with respect to its incorporation into plasma/tissues, its anticoagulant/anti-inflammatory effect, its effect on brain/retina, its anticancer effect, and adverse effects of excess intake, if any.

Secondly, reports on microbial lipid (single cell oil, SCO) production including DHA are reviewed, which include *Crythecodinium cohnii*, *Thraustochytrium aureum*, *Vibrio marinus* etc. Two trials for DHA-SCO using *C. cohnii* has revealed high cell/DHA productivities in a semi-continuous culture (50 g/L of cell mass) and a continuous culture (120 mg/L·h of DHA). A new strain, SR 21, isolated from the coral sea water in Yap Islands and identified as *Thraustochytrium* sp., showed tolerance to high concentration of glucose and to mechanical mixing and resulted in the highest DHA productivity at 4000 mg/L in a fermenter culture for 7 day.

1 ドコサヘキサエン酸の生理作用

ドコサヘキサエン酸 [22 : 6 (*n*-3)] (DHA) が (*n*-3) 系高度不飽和脂肪酸 [(*n*-3) PUFA] に属するイコサペンタエン酸 [20 : 5 (*n*-3)] (IPA) と共に注目されるようになったきっかけは、イヌイット (グリーンランド) とデンマーク人を比較した疫学調査 (Dyerberg ら¹⁾) であった。そこではイヌイットにおける虚血性心疾患 (罹) 病率の低さと、魚やアザラシ食による (*n*-3) PUFA 摂取との関連性が示された。その後、ほとんどの魚油中に DHA より IPA の方が多いこと、IPA の顕著な中性脂肪 [トリアシルグリセリン (TG)] 減少効果²⁾ およびトロンボキサン A₃ (TXA₃) などタイプ 3 のイコサノイド³⁾ (IPA を基質とする) があいて、IPA が (*n*-3) PUFA の中で相対的に注目されてきた^{4), 5)}。しかしヒト脳内前頭葉の灰白質リン脂質 (PL) の内、ホスファチジルエタノールアミン (PE) およびホスファチジルセリン (PS) に DHA が 20~50 % も存在する一方、IPA は皆無であること⁶⁾、さらに網膜⁷⁾ にも同様の脂

肪酸組成がみられることから、DHA の脳と網膜に関連する固有な生理活性に目が向けられ始めるのは当然のことであった。DHA がいかに注目を浴びているかは、その生理活性に関する一般向けの成書 (奥山⁸⁾、矢澤⁹⁾、鈴木¹⁰⁾、和田¹¹⁾、浜崎¹²⁾ ら) に現れている。また原¹³⁾ による総括的な講座が連載中である。さらにカツオの眼か (窩) 脂肪より DHA を高度に精製するプロジェクト研究も発足した (DHA 高度精製抽出技術研究組合、水産庁、1993年)。

ここでは特に IPA との違いに着目して、DHA の生理作用に関する最近のデータを中心に紹介する。

1.1 取り込み特性

n-3 PUFA のヒト血しょう (漿) への取り込みについて、DHA は IPA よりホスファチジルコリン (PC) へ取り込まれにくいことが示された。すなわち Subbaiah ら¹⁴⁾ は、IPA/DHA 比がコレステロールエステル中で PC 中の 2~6 倍あり、*in vitro* 実験でも DHA がレシチン-コレステロールアシル基転移酵素の反応を受けにくいことを示した。さらに吸収の第一段階であるリンパへ

の取り込みにおいても、DHAの方がIPAよりも取り込まれにくいこと¹⁵⁾が明らかにされている。一方、脂質蓄積部位であるそけい部脂肪組織への脂肪酸の取り込み速度は、IPA<18:4 (n-3)<DHA<22:5 (n-3)であるのに対し、*in vitro*での脂肪組織からの易動度はIPA>18:4 (n-3)>DHA>22:5 (n-3)の順であった¹⁶⁾。つまり血しょう脂質から脂肪組織への取り込みはDHAの方が大きく、その逆はIPAの方が大きい。これは血しょう脂質のDHAレベルの変動が小さい¹⁴⁾ことと符合している。このことは血しょう中へ取り込まれた³H] DHA-PLの長い半減期でも示されており、Martinら¹⁷⁾は長い半減期による安定性が中枢神経系へのDHA輸送を効果的に調節する因子と考えた。

またモノエン酸までしか生成しないチャイニーズハムスター由来のV79-R細胞を用いてPUFAの取り込み実験を行った結果、不飽和度が増すほどPEに取り込まれ、DHAが最も選択的にPEに取り込まれた¹⁸⁾。その機構は今後の課題であるが、このようなPEへの高い取り込みは脳および網膜のPEにDHAが高いことと関連しているかも知れない。一方、ブタの新生児を用いたDHAとアラキドン酸(AA)の補給実験では、PL画分の内PEよりPCの方が食餌(餌)中のPUFAを良く反映するという上記とは逆ともいえる報告¹⁹⁾も出された。

TG中の結合位置の影響については、食餌性TGのsn-2の脂肪酸がその生理作用、代謝においてきわめて重要²⁰⁾であり、またsn-2の位置のIPA、DHAがより容易に吸収されやすい²¹⁾ことも報告された。一方脂肪酸組成はきわめて近いものの、結合位置の分布が違う2種の油、すなわちパーム油と酵素処理したパーム油を与えた比較実験においては、ヒトのリポタンパク質濃度にはほとんど差は認められなかった²²⁾。またTG中の結合位置分布のきわめて違うアザラシ油と魚油をラットに与えた結果、キロミクロンTG組成は与えた油に近い組成を示し、そのクリアランスはアザラシ油群の方が大きかったが、組織への(n-3)PUFAの取り込み、母乳の組成などには2つの食餌油の影響は見られなかった²³⁾。

男子の被験者が α -リノレン酸(ALA)を含むあまに油食を摂取することにより、血しょう脂質および好中球PL中のIPAを上げることができた²⁴⁾が、DHAはむしろ減少したデータ²⁵⁾もある。

1.2 抗血栓、抗炎症

血管系において(n-3)PUFAはAAのきつ(拮)抗剤として類似の作用を示すものと考えられるものの、IPAとDHAの血小板凝固阻害作用について、DHAの方が大²⁶⁾とするものと、IPAの方が大²⁷⁾とするもの、さらに阻害性には差がないもののプロスタサイクリン(PGI₂)の生成阻害活性はDHAの方が大きい²⁸⁾な

ど、最近の報告でも分かれている。(n-3)PUFA(エチルエステル)摂取により血液凝固が抑えられる機構と関連して、単核細胞において組織トロンボプラスチン活性が減少すること²⁹⁾が観察された。

一方、平滑筋収縮作用についてはDHAの方に分があり、その水酸化物(リポキシゲナーゼ産物)が最も強い阻害活性を示した^{30),31)}。その機構としてAA由来のロイコトリエンB₄(LTB₄)と5-HEPEの減少³²⁾が指摘された。さらに1-オレオイル-2-DHA-PCがLT生成の第1段階を触媒する5-リポキシゲナーゼの強力な阻害剤であることも示された³³⁾。また(n-3)PUFA摂取が、血管緊張を防止し、スーパーオキシドアニオン生成を低下させ³⁴⁾、霊長類において不整脈防止作用を示す³⁵⁾ことも報告された。

中性脂肪減少作用と関連して、魚油摂取後のキロミクロン低下は、キロミクロン中間体のクリアランス増によるものではなく³⁶⁾、多分キロミクロンの生成、分泌速度の低下による³⁷⁾と考えられている。

魚油の摂取によるじゅくしゅ(腫)形成防止作用は、その摂取によりマクロファージからのサイトカイン〔じゅよう(腫瘍)壊死因子- α 、インターロイキン-1 β]産生が抑えられるため³⁸⁾であり、抗炎症作用は、サイトカイン(血小板由来成長因子)を抑える白血球機能とかかわっている³⁹⁾と考えられた。その中で冠疾患を防止する最適の血しょう脂質像が、低飽和脂肪酸(SFA)、高(n-3)PUFA食で得られたとの報告⁴⁰⁾もある。

赤血球の変形能には赤血球膜の不飽和度が係わっており、変形能の減少は血栓性とも係わる。野島ら⁴¹⁾は赤血球膜のPEとPCにおいてsn-2にDHA、PSにおいてはsn-1にIPAを含むものが特に変形能の大きいことを示した。PEとPCが赤血球膜の主成分であることからDHAの抗血栓性の一側面を表していると考えられる。

IPAとDHAとの比較においては、マウスのひ(脾)リンパ球への取り込みは前述の脂肪組織と同様にDHAの方が多いものの、それらの分裂誘発性はIPAの方が大きいこと⁴²⁾が報告された。

1.3 脳、網膜

DHAに特異的な脳と網膜への取り込みについては、母乳と人工乳とを比較した多くの報告がある。それらの多くはDHAとAAを人工乳へ添加する必要性を示しており、その主旨に沿った勧告が欧米でなされてきている⁴³⁾。以下に最近の報告から紹介する。

とうもろこし油や大豆油を基本とする人工乳の場合、母乳の乳児より血しょうおよび赤血球PEのDHAの低下がみられ⁴⁴⁾、またDHAを含まない低ALA食はヒヨコの神経組織のDHA減少を補えないこと⁴⁵⁾が示された。健康な成熟児を母乳と人工乳とで比較すると、

前者の方が赤血球のDHA組成が高く、また潜在視力も優れていた^{46),47)}。このことは未熟児⁴⁸⁾でも同様であった。一方網膜では差はみられないが、赤血球、脳皮質のDHA組成は母乳群の乳児が人工乳群より有意に大きい⁴⁹⁾という報告もある。

未熟児を市販の人工乳で育てるとDHAの減少だけでなく別の問題も出された。すなわちこの場合、血しょうPCのAAが出産時の83 mg/Lから、4か月目で38 mg/Lに下がった。さらに人工乳に魚油を加えると、AA値はもっと下がり(31 mg/L)、生長も抑えられるというものであった。そのため未熟児の最初の1年目には、DHAだけでなくAAも加えることが必要であるとされた^{50)~53)}。健康な成熟児の場合、AAを合成できるが、それでも市販の人工乳だけでは血しょうPLのDHAとAAは有意に下がり⁵⁴⁾、やはりこれらのPUFA添加が必要と考えられた。また中鎖脂肪酸トリアシルグリセリン(MCT)を含む人工乳に魚油を加えたもので子ブタを飼育すると、この場合も母乳飼育群に比べて脳中のDHAは増加したが、肝臓とじん(腎)臓TGの有意の低下、肝臓PLのAAの低下をみた⁵⁵⁾。MTCの場合、(n-3)と(n-6)系必須脂肪酸の拮抗作用はより強く現れると考えられる。アフリカオナガザルによる介入実験の結果、(n-3)ではなく、(n-6) PUFAを幼児期から与えることが、生長のみならず冠状動脈における動脈硬化予防にも効果的⁵⁶⁾であった。

Alvarezら⁵⁷⁾は、網膜においても、肝臓における⁵⁸⁾と同様に22:5 (n-3) から24:5, 24:6を経て、DHAが作られることを示した。またWeisingerら⁵⁹⁾はモルモットの母親に魚油およびサフラワー油食を与え、生まれた4週齢の子の網膜PLの脂肪酸を測定した。その結果、魚油群では32.4%のDHAであったのに、サフラワー油群では2.4%に過ぎなかった。後者ではDHAの代償としての(n-6)系のドコサペンタエン酸(DPA)が20.6%も見られた。

DHAの脳への取り込み分子として、sn-2 リゾPC-DHA (4~5%)の方が遊離脂肪酸(FFA)-DHA (0.3~0.4%)より大きいこと⁶⁰⁾が、生後20 dのラットを用いて示された。

またIPA, DHAのみならず雌ブタに与えるALA量が、その母乳のALA, IPA, DHA組成およびその子ブタの組織PLのIPA, DHAに影響したという報告⁶¹⁾もある。

1.4 抗がん性

(n-3) PUFAのがん抑止作用についても多くの報告がある。その内、結腸がんに対するもの^{62)~64)}が多い。他にラットのN-エチル-ニトロソ尿素誘発性乳がんにおいて、魚油群が発生率が最も小さく、とうもろこし油 ($p<0.1$), オリーブ油 ($p<0.04$) の順に増加した例⁶⁵⁾

もある。そこではがん組織のホスファチジルイノシトール(PI)においては18:0が有意に高く、PEにおいてはリノール酸(LA)が有意に低く($p<0.01$), AAが有意に高かった($p<0.05$)。一方、ラットにWalker 256がん肉腫細胞を注入しとうもろこし油と水素添加ラードを組み合わせて与えた結果、とうもろこし油のみの食餌群の死亡率が低く、成長がんにおいてはPL中のLAが高く、AAが低かった⁶⁶⁾。多くの場合がん細胞のPUFAが低いことが示されている⁶⁷⁾が、上記の乳がんにおいては逆であった。

抗がん性とは異なるが、 α -トコフェロールを補充したIPAまたはDHAエチルエステルが抗マラリア作用を持つ⁶⁸⁾ことも報告された。

1.5 過剰摂取

以上のように(n-3) PUFAの摂取はきわめて重要である反面、その長期にわたる充分量の摂取は過酸化脂質の問題が懸念される。例えば魚油を摂取したラットの赤血球はチオバルビツール酸価が大きく酸化損傷を受けやすい⁶⁹⁾と報告された。以下に(n-3) PUFAの摂取を問題とする報告を示す。

虚血性卒中患者では赤血球の脂質過酸化容量が健康人より大きい(4.18と1.45 nmol MDA/g-Hb per 24 h, $p<0.01$) こと、さらに赤血球の脂肪酸組成はDHAのみが大きい(9.4%と5.7%)⁷⁰⁾というデータが出された。DHA組成が高く、脂質過酸化容量が高いことが、脳卒中患者の微小循環系の血流に何らかの病理的作用を及ぼしている可能性がある。

またTheretら⁷¹⁾は、赤血球PLのDHA組成と動脈硬化の危険因子(血しょうコレステロール, LDL, アポBなど)に正の相関があることを示した。そしてイヌイット成人の主な死因は脳出血であり、その要因として(n-3) PUFAの過剰摂取を挙げた。ただしアラスカのイヌイットに関する最近の報告では、血しょう脂質のIPA, DHA組成は有意に高いもののAAは変わらず、出血時間も変わらなかった⁷²⁾。

イヌイットに比較し、より少ない実際の魚油の摂取は、血しょうTGを減少させるが、コレステロールには変化はなく、高脂血症患者の場合、LDLコレステロールの増加がみられるケースもあった⁷³⁾。また(n-3) PUFAの摂取は、軽微な糖尿病に対しては効果的だが、重い糖尿病には逆効果⁷⁴⁾であった。

Priscoら⁷⁵⁾は、4か月の(n-3) PUFAエチルエステル摂取によってもオリーブ油摂取と比較して、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤-1は上昇せず、血しょう脂質にも有意差はなく効果は認められなかった。

2 微生物によるDHA生産

微生物より生産する脂質はその工業化指向に関連して

Single Cell Oil (SCO) と呼称される。SCO 研究において必須脂肪酸である PUFA は大きい部分を占めてきた⁷⁶⁾。PUFA の中で在来の植物油糧種子や動物脂にあまり含まれていない、必須脂肪酸活性の高いものが対象となってきたことはいうまでもない。その中で γ -リノレン酸の生産が工業化され⁷⁷⁾、AA の大量生産法も確立されてきた⁷⁸⁾。DHA-SCO の研究は微生物における DHA の分布が広くないこと、長鎖であるだけガスクロマトグラフィーによる同定が難しかったことから比較的新しい分野であった。魚油という比較的安価な ($n-3$) PUFA 資源の中で、DHA-SCO が注目されるのは、1) 不安定な魚油供給への代替策、2) 魚臭の少ない製品、3) 純度の高い DHA、4) 純度の高い他の PUFA の開発などが期待されるからである。以下に DHA-SCO の研究を紹介する。

DHA も以前から、海洋性の渦べん(鞭)毛藻類や卵菌類に分類されていた海生菌に含まれていることは知られていた。例えば渦鞭毛藻類の *Cryptocodinium cohnii*^{79),80)} の TG 中に 25 %, PC 中では 66 % と高い DHA 組成が見いだされた。これらの培養において、培養期間の延長とともに SFA である 12:0 と 14:0 が増加し、DHA が減少した。窒素ガスを吹き込むことにより、トリアシルグリセリン中の、12:0、14:0 が増加し、DHA は減少したが、これらの組成は温度、光、塩分濃度によってあまり影響されなかった。その後 Bell と Henderson⁸¹⁾ は *C. cohnii* の PC 中、22:6/22:6、14:0/22:6、16:0/22:6 の 3 分子種で 75~82 % を占めること、温度を低下させると SFA/SFA-PC が最も著しく減少することを示した。最近、同じ菌株 *C. cohnii* No. 92 を用いてきわめて高い生産法が開発された。すなわち光を当てない従属栄養条件下、炭素源としての酢酸を流加する通気かくはん培養の結果、50 g/L もの乾燥菌体を得た⁸²⁾。さらに *C. cohnii* ATCC 30021 の通気かくはん連続培養⁸³⁾により、きわめて高い菌体の生産性 (1.8 g/L $\cdot$ h) が特許に出された。その DHA 生産性は 120 mg/L $\cdot$ h であった。またここではフラスコ静置培養、フラスコ振とう培養、通気かくはん連続培養における DHA 組成が、それぞれ 11.3 %, 34.5 %, 45.2 % と培養様式の影響を示す結果が出されたが、その機構は今後の課題である。

1986 年、DeLong と Yayanos⁸⁴⁾ は PUFA が原核生物にも存在することを見いだした。すなわち 1,200 m~10,476 m の深さより単離した好圧細菌は DHA、IPA を生成し、その中でも *Vibrio marinus* が、常圧でも比較的高い DHA 組成 (20.4 %) を示した。低温の方が、また高圧の方が DHA 組成は増加し、PUFA 生成が低温高圧下における細胞膜流動性に関与していることを示唆した。また Yano⁸⁵⁾ は 3,000 m 以下の深海魚

より単離した海洋細菌 (*Vibrio* 属) に DHA と IPA を見いだした。その一株は好気条件下、5 $^{\circ}$ C、6 d の培養で 0.8 mg/L の DHA を生成した。これらの *Vibrio* 属における DHA-SCO 供給源としての問題点は増殖性が低いことにあるため、今後の増殖性改善策が期待される。

DHA の *de novo* 生産性の低さを回避する方策として、外部から DHA を与えて取り込ませることが考えられた。Ando ら⁸⁶⁾ は *Vibrio* 属 (VB-5) を ($n-3$) PUFA 含有いわし油 (1~3 %) 存在下で培養し、その取り込みについて検討した。その結果、15 $^{\circ}$ C、48 h の培養で PE とホスファチジルグリセリン (PG) 画分に ($n-3$) PUFA が濃度依存的に取り込まれることを明らかにした。Watanabe ら⁸⁷⁾ も各種の細菌のリン脂質画分への DHA の取り込みを検討した。その結果、EPA 生産性の *Shewanella* 属細菌が最も大きい取り込みを示した。また Shinmen ら⁸⁸⁾ は AA 生産性 *Mortierella alpina* 1S-4 が IPA と DHA をそれぞれ 14.0 %, 17.3 % 含むさけ油を主要炭素源とする培養において、IPA と DHA の組成がそれぞれ 29.2 %, 20.0 % に達することを報告した。添加魚油中の IPA、DHA は菌糸中の PL および TG 中に取り込まれていた。Hayashi ら⁸⁹⁾ も元来菌体脂質として AA が主成分である *Euglena gracilis* Z 株の培地に FFA-DHA を添加することにより 76 % の DHA 組成を得た。DHA の取り込み活性は FFA>エチルエステル>TG の順であった。

一方卵菌類に分類されていた *Thraustochytrium aureum* (ATCC 34304)⁹⁰⁾ は、ラビリンチュラ類に組み入れられている⁹¹⁾が、Baipai ら⁹²⁾はこの菌株の培養において、グルコース 20 g/L、グルタミン酸 Na 2 g/L を主成分とする培地により、25 $^{\circ}$ C、光照射下、6 d で 3.8 g/L の菌体と 270 mg/L の DHA を得た。これは DHA-SCO の生産性に焦点を当てて検討した最初の報告であった。

引き続き Baipai ら⁹³⁾ は *T. aureum* による DHA 生産最適化の検討を行い、可溶性デンプン (25 g/L) を炭素源として最大 DHA 生産性 510 mg/L (40 h) を得た (フラスコ培養)。彼らは酵母エキスなどより安価な窒素源のファーマンターによる生産性向上の可能性に言及した。

一方、Kendrick と Ratledge⁹⁴⁾ は PUFA 生産性の検討を各種のカビについて行い、*T. aureum*、*T. roseum*、*Schizochytrium aggregatum* などのラビリンチュラ類において 30 % までの DHA、11 % までの EPA を得た。さらにクエン酸開裂酵素活性がこれらのカビにおける脂質蓄積性 (10 % 以上の脂質含量) に関連しているとした。そしてこれらの菌株の内、*T. aureum* の DHA-SCO 供給源としての可能性を示し、3 d の培養で 4.0 g/L の菌体、400 mg/L の脂質を得、その

中性脂質における DHA 組成は30%であった。しかし *T. aureum* ではクエン酸開裂酵素活性がみられず、脂質含量は10%以上にはならないとした。

その後、我々も *T. aureum* の DHA-SCO 供給源としての検討を行った。その結果、2 d のフラスコ培養で 4.5 g/L の菌体、DHA 組成 40% の脂質を 800 mg/L 得た⁹⁵⁾。本菌株は機械的に弱いのか、通気かくはん培養においてはフラスコ培養の 1/3 程度の増殖に留まった。顕微鏡観察よりこの細胞はきわめて壊れやすいと考えられた。そこで液乱れの少ないと考えられる多孔質担体を用いる培養⁹⁶⁾を行い、担体内に 10 g/L 近くまで菌体が濃縮されることを見いだした。

次いで単位容積当たりの生産性を高めるためにグルコース濃度を上げたが、10 g/L 以上で増殖速度が減少し増殖阻害が認められた。しかし可溶性デンプンを炭素源とすると、この阻害を受けなかった。これは菌体より分泌されるアミラーゼによってデンプンより生成するグルコースが高い濃度になる前に利用されるためと考えられた。そこで 30 g/L のデンプン、窒素源としてトリプトンを含む培地によるフラスコ培養を行い、4 d で 600 mg/L の DHA⁹⁷⁾ を得た。

我々はさらにヤップ島のサンゴ礁海域より単離した 400 株の中に DHA 生産性海生菌 (SR 21) を見いだし⁹⁸⁾、ラビリンチュラ類の *Thraustochytrium* sp. と同定した⁹⁹⁾。SR 21 は *T. aureum* とは遊走子の泳出様式などが異なり、新しい菌株と考えられた。SR 21 はグルコースによる阻害も、かくはんによる阻害も見られず、グルコース 60 g/L とペプトン、コーンスチープリカーを窒素源とする 7 d の通気かくはん培養で、4000 mg/L の DHA¹⁰⁰⁾ が得られた。この生産性は DHA-SCO 供給源としての展望が持てる値と考えられる。SR

21 より得られた脂質の脂肪酸組成を Fig.-1 に示す。DHA 以外に、(*n*-6) 系の DPA が含まれていた。

その他 DHA-SCO に関する研究として、以下のものがある。すなわち円石藻 (*Emiliana huxleyi*)¹⁰¹⁾ より、菌体 1 g 当たり 10 mg の DHA が得られ、そこでは連続光照射よりも明暗培養の方が DHA 含量が大きくなること、また光ファイバーを用いたバイオリクターにより、ハプト藻 (*Isochrysis galbana*) の培養を効率化¹⁰²⁾する試みも行われている。また *Japonochytrium* sp. ATCC 28207 の培養によって菌体 1.7 g/L と DHA 組成 30% の脂質を 140 mg/L¹⁰³⁾ 生産するという特許が出された。Kyle ら¹⁰⁴⁾ は MK 8805 と名付けた藻類の従属栄養による培養の結果、菌体 8 g/L、35% DHA 組成の脂質を 2.8 g/L 得た。この脂質は IPA を含まず、DHA は主として TG 中の *sn*-1 と *sn*-3 に結合していた。この SCO の大量生産がすでに実施され、毒性試験と生理実験が行われているという¹⁰⁵⁾。

以上 DHA-SCO 生産性を向上させる試みを紹介した。DHA 生産性と高い増殖性を兼ねるものが少ない中で、DHA-SCO の実用化につながる例も出されつつある。SCO の研究は、生産性の点からだけではなく、生成物 (DHA) の純度や、DPA や炭素鎖 24 の PUFA など通常の油脂素材では得られない脂質の生産という観点からも多くの可能性を持っているといえる。

〔平成 7 年 (1995 年) 6 月 8 日受理〕

文 献

- 1) J. Dyerberg, H.O. Bang, E. Stofferson, S. Moncada, J.R. Vane, *Lancet*, i, 117 (1978)
- 2) N. Willumsen, S. Hexeberg, J. Skorve, M. Lundquist, R.K. Berge, *J. Lipid. Res.*, 34, 13 (1993)

Fig.-1 Fatty acid composition of total lipid from SR 21.

- 3) P. Needleman, A. Raz, M.S. Minkes, J.A. Ferrendelli, H. Sprecher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 944 (1979)
- 4) C.M. Wojenski, M.J. Silver, J. Walker, *Biochim. Biophys. Acta*, **1081**, 33 (1991)
- 5) 田村 泰ら, “油脂の栄養と疾病”, 島崎弘幸, 町田芳章 (編), 幸書房, (1990), p. 197
- 6) J.S. O'Brien, E.L. Sampson, *J. Lipid Res.*, **6**, 545 (1965)
- 7) N. Sarda, A. Gharib, M. Croset, P. Molier, M. Lagarde, *Biochim. Biophys. Acta*, **1081**, 75 (1991)
- 8) 奥山治美, “食卓が危ない!! あなたの「油選び」は間違っている”, ハート出版 (1993)
- 9) 矢澤一良, “魚があなたを救う DHA”, 法研 (1993), “続・魚があなたを救う DHA”, 法研 (1994)
- 10) 鈴木平光, “いわし”, NHK 出版 (1993)
- 11) 和田 俊, “イワシ読本”, 外山健三編著, 成山堂書店 (1994)
- 12) 浜崎智仁, “魚嫌いは早死する”, エール出版 (1994)
- 13) 原 健次, “ドコサヘキサエン酸の生化学と応用”, 油脂, **47** (4), (1994)
- 14) P.V. Subbaiah, D. Kaufman, J.D. Bagdade, *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 360 (1993)
- 15) 池田郁男, 佐々木英治, 安波治子, 菅野道廣, 今泉勝己, 矢澤一良, 日本農芸化学会 1993 年度大会講演要旨集, p. 75
- 16) T. Raclo, R. Groscolas, *Am. J. Clin. Nutr.*, **60**, 72 (1994)
- 17) R.E. Martin, E.B. Rodriguez de Turco, N.G. Bazan, *J. Nutr. Biochem.*, **5**, 151 (1994)
- 18) H. Masui, R. Urade, M. Kito, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 644 (1995)
- 19) M.C. Craig-Schmidt, K.E. Stieh, *INFORM*, **6**, 529 (1995)
- 20) S.C. Renaud, J.C. Ruf, D. Petithory, *J. Nutr.*, **125**, 229 (1995)
- 21) M.S. Christensen, CE. Hoy, C.C. Becker, T.G. Redgrave, *Am. J. Clin. Nutr.*, **61**, 56 (1995)
- 22) P.L. Zock, J. HM. de Vries, N.J. de Fauw, M.B. Katan, *Am. J. Clin. Nutr.*, **61**, 48 (1995)
- 23) C-E. Hoy, M. Jensen, M.S. Christensen, *INFORM*, **6**, 522, (1995)
- 24) E. Mantzioris, M.J. James, P.A. Gibson, L.G. Cleland, *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 1304 (1994)
- 25) E. Mantzioris, M.J. James, P.A. Gibson, L.G. Cleland, *Am. J. Clin. Nutr.*, **61**, 320 (1995)
- 26) R. DeCaterina, M.I. Cybuis, S.K. Clinton, M.A. Gimbrone Jr., P. Libby, *Arterioscler. Thromb.*, **14**, 1829 (1994)
- 27) C. Benistant, F. Achard, G. Marcelon, M. Lagarde, *Atherosclerosis*, **104**, 27 (1993)
- 28) I. Ikeda, K. Wakamatsu, A. Inayoshi, K. Imaizumi, M. Sugano, K. Yazawa, *J. Nutr.*, **124**, 1898 (1994)
- 29) E. Tremoli *et al.*, *Arterioscler. Thromb.*, **14**, 1600 (1994)
- 30) J.W. Karanian, H.Y. Kim, J.A. Yergey, N. Salem Jr., *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **50**, 271 (1994)
- 31) J.W. Karanian, H.Y. Kim, N. Salem Jr., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **270**, 1105 (1994)
- 32) M.E. Turini, W.S. Powell, S.R. Behr, B.J. Holub, *Am. J. Clin. Nutr.*, **60**, 717 (1994)
- 33) K. Matsumoto, I. Morita, H. Hibino, S. Murota, *Prostaglan. Leukotri. Essent. Fatty Acids*, **49**, 861 (1993)
- 34) Y. Chen, D.L. Lawson, J.L. Mehta, *Thromb. Res.*, **76**, 317 (1994)
- 35) P.L. McLennan, T.M. Bridle, M.Y. Abeywardena, J.S. Charnock, *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 666 (1993)
- 36) W.S. Harris, F. Muzio, *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 68 (1993)
- 37) W.S. Harris, W.E. Connor, N. Alam, D.R. Illingworth, *J. Lipid Res.*, **29**, 1451 (1988)
- 38) G. Renier, E. Skamene, J. DeSanctis, D. Radzioch, *Arterioscler. Thromb.*, **13**, 1515 (1993)
- 39) J.M.W. Wallace, E. Turley, W.S. Gilmore, J.J. Strain, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **15**, 185 (1995)
- 40) A. Nordoy, L.F. Hatcher, D.L. Ullmann, W.E. Connor, *Am. J. Clin. Nutr.*, **57**, 634 (1993)
- 41) 野島正博, 細川雅史, 高橋是太郎, 羽田野六男, 菊池佑二, 平成 6 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 245 (1994)
- 42) K.H. Fowler, R.S. Chapkin, N. McMurray, *J. Immunol.*, **151**, 5186 (1993)
- 43) H. Zwier, I.S. Newton, *INFORM*, **6**, 523 (1995)
- 44) D.L. Ponder, S.M. Innis, J.D. Benson, J.S. Siegelman, *Pediat. Res.*, **32**, 683 (1992)
- 45) J.G. Anderson, W.E. Connor, *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 1338 (1994)
- 46) M. Makrides, K. Simmer, M. Goggin, R.A. Gibson, *Pediat. Res.*, **33**, 425 (1993)
- 47) M.H. Jorgensen, O. Hernell, G. Holmer, K.F. Michaelson, *INFORM*, **6**, 530, (1995)
- 48) S.H. Werkman, S.E. Carlson, *INFORM*, **6**, 530 (1995)
- 49) M. Makrides, M. Neumann, R. Gibson, *INFORM*, **5**, 547 (1994)
- 50) S.E. Carlson, S.H. Werkman, J.M. Peeples, R.J. Cooke, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1073 (1993)
- 51) M.F. Drongelen, A. Houwelingen, A. Kester, A.P. de Jong, C.E. Blanco, T. Hasaart, G. Hornstra, *Br. J. Nutr.*, **73**, 405 (1995)
- 52) C.M. Smuts *et al.*, *INFORM*, **6**, 469 (1995)
- 53) M.A. Crawford, W. Doyle, A. Leaf, M. Leighfield, K. Ghebremeskel, A. Phylactos, *Nutr. Health*, **9**, 81 (1993)
- 54) B. Koletzko, T. Docsi, H. Demmelair, U. von Schenck, *INFORM*, **6**, 530 (1995)
- 55) K.M. Wall, D. Diersen-Schade, S.M. Innis, *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 1317 (1994)
- 56) M.S. Wolfe, J.K. Sawyer, T.M. Morgan, B.C. Bullock, L.L. Rudel, *Arterioscler. Thromb.*, **14**, 578 (1994)
- 57) R.A. Alvarez, G.D. Aguirre, G.M. Acland, R.E. Anderson, *Invest. Ophthalm. Visual Sci.*, **35**, 402 (1994)
- 58) A. Voss, M. Reinhart, S. Sankarappa, H. Sprech-

- er, *J. Biol. Chem.*, 266, 19995 (1991)
- 59) H.S. Weisinger, A.J. Vingrys, A.J. Sinclair, *INFORM*, 6, 530 (1995)
- 60) F. Thies, C. Pillon, P. Moliere, M. Lagarde, J. Lecerf, *Am. J. Physiol.*, 267, R1273 (1994)
- 61) G. Cherian, F.X. Aheene, J.S. Sim, *INFORM*, 5, 472 (1994)
- 62) S.A. Broitman, F. Cannizzo, Jr., *Ad. Exp. Med. Biol.*, 322, 103 (1992)
- 63) M. Takahashi, T. Minamoto, N. Yamashita, T. Kato, K. Yazawa, H. Esumi, *Cancer Let.*, 83, 177 (1994)
- 64) M. Anti *et al*, *Gastroenterology*, 107, 1709 (1994)
- 65) C.M. Williams, K. Maunder, *Br. J. Nutr.*, 71, 543 (1994)
- 66) J.M. Black, M.C. Nesheim, J.E. Kinsella, *Br. J. Nutr.*, 71, 283 (1994)
- 67) D.F. Horrobin, "Omega-6 Essential Fatty Acids. —Pathophysiology and Roles in Clinical Medicine", Alan R. Liss, Inc., (1990) p. 351
- 68) M. Fujikawa, T. Kamitani, I.S. Tunru, K. Yamazaki, T. Hamazaki, *J. Nutr. Biochem.*, 4, 153 (1993)
- 69) D. Mills, H-C. Xing, M. Murthy, and Y-S. Huang, *INFORM*, 5, 473 (1994)
- 70) S.G. Imre, I. Fekete, T. Farkas, *Stroke*, 25, 2416 (1994)
- 71) N. Theret, J.M. Bard, M.C. Nuttens, J.M. Lecerf, C. Delbart, M. Romon, J.L. Salomez, J.C. Fruchart, *Metabolism : Clin. Exper.*, 42, 562 (1993)
- 72) A.J. Parkinson, A.L. Cruz, W.L. Heyward, L.R. Bulkow, D. Hall, L. Barstaed, W.E. Connor, *Am. J. Clin. Nutr.*, 59, 384 (1994)
- 73) M.S. Harris, *J. Lipid Res.*, 30, 785 (1989)
- 74) C.A. Berdanier, *Nutrition Today*, 29, 28 (1994)
- 75) D. Prisco *et al*, *Thromb. Res.*, 76, 237 (1994)
- 76) 清水 昌, 化学と生物, 31, 312 (1993)
- 77) 鈴木 修ら, 油化学, 37, 1081 (1988)
- 78) 秋元健吾, 日本農芸化学会誌, 69, 729 (1995)
- 79) G.W. Harrington, G.G. Holz, Jr., *Biochim. Biophys. Acta*, 164, 137 (1968)
- 80) D.H. Beach, G.G. Holz, Jr., *Biochim. Biophys. Acta*, 316, 56 (1973)
- 81) M.V. Bell, J. Henderson, *Lipids*, 25, 115 (1990)
- 82) 長谷川清, 佐野美代子, 瀬戸 明, 本村敏明, 岩本浩明, 日本農芸化学会 1994 年度大会講演要旨集, p. 673
- 83) 武内大造ら, 公開特許, 平 7-8268
- 84) E.F. DeLong, A.A. Yayanos, *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 730 (1986)
- 85) Y. Yano, A. Nakayama, H. Saito, K. Ishihara, *Lipids*, 29, 527 (1994)
- 86) S. Ando, K. Nakajima, M. Hatano, *J. Ferm. Bioeng.*, 73, 169 (1992)
- 87) K. Watanabe, C. Ishikawa, H. Inoue, D. Cenhu, K. Yazawa, K. Kondo, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 325 (1994)
- 88) Y. Shinmen, H. Kawashima, S. Shimizu, H. Yamada, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 301 (1992)
- 89) M. Hayashi, K. Toda, S. Kitaoka, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 352 (1993)
- 90) S. Goldstein, *Am. J. Botany*, 50, 271 (1963)
- 91) N.D. Levine *et al.*, *J. Protozoology*, 27, 37 (1980)
- 92) P. Bajpai, P.K. Bajpai, O.P. Ward, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 35, 706 (1991)
- 93) P.K. Bajpai, P. Bajpai, O.P. Ward, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 509 (1991)
- 94) A. Kendrick, C. Ratledge, *Lipids*, 27, 15 (1992)
- 95) 飯田 巖, 中原東郎, 八木久彰, 山岡正和, 神坂 泰, 横地俊弘, 第 32 回油化学討論会・研究発表会講演要旨集, p. 74 (1993)
- 96) 飯田 巖, Colin Webb, 神坂 泰, 横地俊弘, 八木久彰, 山岡正和, 中原東郎, 平成 5 年度日本生物工学会大会講演要旨集, p. 132 (1993)
- 97) 横地俊弘, 武田恭一, 中原東郎, 鈴木 修, 平成 6 年度日本生物工学会大会講演要旨集, p. 217 (1994)
- 98) 横地俊弘, 中原東郎, 東原孝規, 第 4 回マリンバイオテクノロジー研究発表会講演要旨集, p. 68 (1995)
- 99) 中原東郎, 横地俊弘, 本多大輔, 東原孝規, 日本農芸化学会 1995 年度大会講演要旨集, p. 311
- 100) 横地俊弘, 中原東郎, 日本農芸化学会 1995 年度大会講演要旨集,
- 101) 山崎 剛, 真部永地, 高野博幸, 岡崎恵視, 早出広司, 松永 是, 日本農芸化学会 1993 年度大会講演要旨集, p. 327
- 102) 岩本 香, 高野博幸, 早出広司, 松永 是, 日本農芸化学会 1993 年度大会講演要旨集, p. 327
- 103) 湯不二夫ら, 公開特許, 平 1-199588
- 104) D.J. Kyle, V.J. Sicotte, J.J. Singer, S.E. Reeb, "Industrial Applications of Single Cell Oils", D.J. Kyle, C. Ratledge (Ed), (1992) p. 287
- 105) D.J. Kyle, J. Singer, R. Gladue, S. Hoeksema, *INFORM*, 6, 518 (1995)