平成 24 年度水産学進歩賞

水産物中の脂質成分の分布・動態の解明とその応用^a

齋 藤 洋 昭

(株)水産総合研究センター中央水産研究所

Studies on marine lipid analysis and its application

HIROAKI SAITO

National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan

1. はじめに

食物連鎖の研究は、生物間の繋がりや物質・エネルギーの移動を明らかにすることから生態系解明に重要である。古典的には、捕食者の摂餌行動や胃内容を調べることで捕食-被食の関係を推定した。最も分かり易い基本的な手法といえるが、空胃である場合や、生物によっては、ほとんど痕跡を残さない場合があり、消化管内容物に基づく推定は難しいことも多い。現在主流であるのは生物中の安定同位体比を用いた手法である。本手法はたとえば窒素の同位体の移動速度の違いにより、栄養段階が上がるにつれ重い同位体が濃縮されていくことに基づく。ところが、5~6段階に及ぶ海洋の食物連鎖(食物網)は複雑で、しばしば不確実性が大きく曖昧なことがある。また、栄養段階における位置付けが分かり、大きな循環解明などの指標となるものの、個々の関係の詳細把握までには至らない。以上のように、食物連鎖の解析には、その手法に限りがあり、すべてが的確に理解されているとは限らない。本研究では今までの手法と異なる視点から、食物網解明に脂肪酸という切り口を提案した。

2. 生体成分の解明と脂質への興味

海洋動物に限らず、種々の生物の生体成分の解明は、有用成分探索を主眼に、いわば最も実学的な課題で、人々の生活に役立てることを目途として発展してきた。化学的手法や生化学的手法を駆使し、分子レベル、細胞レベルで生体成分が解明されてきた。その結果、新物質や機能性物質が見出され、医薬品や栄養・健康物質への利用が開かれている。水産物に多く含まれ医薬品となった

イコサペンタエン酸(20:5n-3, IPA, EPA)や特定保健用食品(特保)素材として製品化されたドコサヘキサエン酸(22:6n-3, DHA)が、水産物由来の有用物質開拓の成果としてあげられる。同時に、細胞や組織レベルの研究として、たとえば魚類生理に関わる研究なども、「知る」という学問的興味だけでなく、その生物や得られる産物を役立てる目的にも寄与する。養殖魚や放流魚などの生産性の向上や疾病の予防、高品質化や安全性・健全性の研究なども、食品化という視点に基づき、生体成分とその関連研究は少なからず水産物の利用を目的としてきた。

動物の生体中の主成分は、水を除けば、たんぱく質と脂質であり、脂質はエネルギー源として重要であるばかりでなく、細胞膜の主要成分でありホメオスタシスに関与する。分子レベルで見た場合、たんぱく質はその構成単位が20種類のアミノ酸に限られているのに比較し、脂質は多様性に富んでいる。その主たる構成単位である脂肪酸のみに限っても異なる化学構造のものが多数存在する。動物の脂肪酸の多くは餌生物脂質(共生関係も含む)に由来し、水産物、特に海洋動物では、その食物網が複雑なこともあって、変化に富んだ多種多様な脂肪酸を取り込んでいる。^{1,2)} 海産魚類では構造の明らかな脂肪酸は200種類に及ぶとされる。実際に我々が通常扱う脂肪酸は、魚類で60種類程度であるが、現在では分析機器の進歩もありすべて容易に化学構造が決定できる。また、は乳類や魚類などの高等動物では脂質生理の研究が進み、脂肪酸の体内動態や生合成機構が明らかとなり、一連のn-3多不飽和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)はリノレン酸(18:3n-3)からEPA, DHAに至るまでの不飽和化などの化学修飾やその経路

が明らかにされている。同様に n-6PUFA もまた、リノール酸 (18:2n-6, LA) からアラキドン酸 (20:4n-6, ARA) へ至る流れが明らかになっている。高等動物では酵素系の欠損から n-3, n-6 の相互変換が不可能であることも明らかにされるなど、動物体内での代謝の解明により、一見複雑で多種類の脂肪酸が、幾つかのグループに括ることができ、それぞれのグループが独立して変化するということが分かってきた。捕食・被食生物間での特定の脂肪酸の移動のみならず、受け渡しの前後での変化や被・捕食者体内での代謝も推定できる。単なる捕食・被食証明のマーカーとしてだけでなく、対象生物中での修飾や生合成など、波及する様々な情報も得られ、より広範で正確なアプローチが期待される。

3. 珊瑚礁域での植食性魚類の n-6PUFA (実例 1)

一般に陸上の動植物脂には LA や ARA などの n-6 PUFA が比較的多く見られるが、水産物には前述したように n-3PUFA が多く、n-6 PUFA は少量しか含まれないことが知られている。一方、珊瑚礁の中は非常に多様性の高い世界で、他種類の生物が生息している。中に植食性魚類であるアイゴ類も生息しているが、その脂質には多量の n-6 PUFA が見出され、その原因は餌となる大型藻類 (海藻) に含まれる LA や ARA などの n-6PUFA にあり、アイゴは取り込むと同時に、長鎖化や不飽和化などの脂肪酸の修飾も生体内で行っていることが分かった。^{3,4)} このように動物の脂肪酸を調べることで、特定の系であれば、明確な被・捕食の関係が見出されるのみならず、動物体内の脂質生理も理解され、両者が互いに強い裏付けとなる。

4. n-3 PUFA の海洋での分布 (実例 2)

DHA など n-3 PUFA の起源は動植物プランクトンや微生物とされ、^{1,2)} また淡水魚と異なり多くの海産魚は、自ら DHA を生合成する機能が非常に弱いか、持っていないと考えられている。⁵⁾ 食物連鎖の結果、海洋のほとんどの動物が DHA や EPA などの長鎖 (long-chain, LC, C20 以上の鎖状脂肪酸) n-3 PUFA を蓄積している。^{1,2,5)} 中でもマグロやカツオなどのサバ科 Thunnini 族の高度回遊性魚類 (Highly migratory fish) の脂質は、他の魚種に比較して特異的に高い DHA 含量となり、Thunnini 族全魚種で全器官にわたり DHA が主成分であり、⁶⁻⁹⁾ 20~30% の含量を示す。⁶⁻¹⁶⁾ リン脂質中のみならず蓄積脂質であるトリアシルグリセロール (TAG) 中にも高濃度で見出されることから、季節変動や個体差も小さく一様に高い特徴を示す。^{7,9-14)} 一方、餌由来の胃内容物脂質の DHA 含量はばらつき、しかも全体に低い傾向であることから、⁷⁻¹⁶⁾ 選択的に DHA を濃縮していると推定される。¹⁷⁾ これらの魚類は広範囲に回遊しているが、そ

の間大量の餌を吞食し同時に長距離を短期間で移動するため、脂質もエネルギーとして相当量消費している。回遊の間、ただ単に全脂質を平均的に蓄積あるいは消費するのではなく、エネルギー効率のよい飽和脂肪酸を選択的に使用し、必須で β 酸化を受けにくい DHA を蓄積していくと考えられる。¹¹⁻¹⁷⁾ 同様にアジ科 (Carangidae) の回遊性魚類であるツムブリ *Elagatis bipinnulata*¹⁶⁾ やカンパチ *Seriola dumerili*,¹⁸⁾ 他のマグロ族 (Sardini tribe) に属するハガツオ *Sarda orientalis*¹⁶⁾ 脂質なども同様に高い DHA 含量を示すことから、高 DHA 含量は Thunnini 族のみが示す種・族特異性ではなく、広範囲に及ぶ回遊という生態が重要な決定因子の一つと考えられる。一般に、1 次生産者や 1 次消費者の脂質はリノレン酸や EPA が中心で DHA はむしろ低い。捕食の度に徐々に濃縮されていく DHA は、高度回遊性魚類で極限に達し、前述したように TAG 中でも高濃度のため、^{6,17)} 国内ではカツオやマグロ残滓が DHA 供給源として利用されている。

5. モノ不飽和脂肪酸 (MUFA) の深海への移動と可能性 (実例 3)

深海へのエネルギーや物質移動に動物プランクトンが大きく関わっていることは周知である。中でもワックスエステル (WE) としてカイアシ類に多量に貯留された飽和酸やモノ不飽和脂肪酸 (MUFA) は、ハダカイワシやエビ類などのマイクロネクトンを経て深海に伝播し、栄養段階上位の様々な深海生物の重要な栄養となっている。¹⁹⁻²³⁾ 深海性の魚類や甲殻類の多くが、高い含量の LC-MUFA を有している。これは、カイアシ類に蓄積された WE 中の脂肪酸や脂肪アルコールをそのまま引き継いだもので、様々な深海生物の重要なエネルギー源となる。LC-MUFA の中で、西部太平洋の動物では、大西洋やインド洋に見られない高含量の 20:1n-11 が特異的に蓄積することが分かってきた。20:1n-11 については、我々が報告するまで Lee らの東部太平洋の Calanus 属カイアシの報告のみが言及していた。¹⁹⁾ 世界中のカイアシに 20:1n-9 が確認されるが、こと西部太平洋、特に亜寒帯域から寒帯域に生息する種のみ、高い含量の 20:1n-11 が見出される。^{2,19-23)} 太平洋と大西洋ではカイアシなどの甲殻類による脂肪酸生合成系が異なっているのだろうか。

6. その他の特異な PUFA の発見とその可能性 (実例 4)

深海には表層の栄養にまったく依存しない生物群集も存在する。それらの主たる栄養は化学合成細菌が担い、その細菌は地球内部からの湧水中のイオウやメタン、金属などを利用して、有機物やエネルギーを作り出してい

る。それらと共生するシロウリガイ *Calyptogena* spp. やシンカイヒバリガイ類 *Bathymodiolus* spp. が、世界中の熱水や冷湧水噴出孔付近で様々に分化し、多くは、海水温 1–5°C、水圧 100 KPa 以上の暗黒・高圧下の極限環境に生息している。中でもナギナタシロウリガイ *Calyptogena phaseoliformis* は最深部 (6,000 m 以深) に生息する種で、消化管が完全に退化し、良く発達し肥大化したエラに硫黄酸化細菌が共生している。共生細菌は、湧水中の硫化水素などの化学成分を利用して生命活動を行い、生み出した栄養を宿主に提供し、宿主の貝はすべての栄養をその細菌に依存している。また、シンカイヒバリガイ *Bathymodiolus japonicus* やヘイトウシンカイヒバリガイ *Bathymodiolus platifrons* は、メタン酸化細菌が共生したエラを持ち、共生細菌はメタンなどを利用して栄養を生産している。我々は、それらの二枚貝が、いずれも DHA などの n-3 PUFA をまったく持たず、新しい脂肪酸群である n-4 族 (n-1, n-4, n-7) メチレン中断型 (methylene interrupted) または非メチレン中断型 (non-methylene interrupted) PUFA 類で構成されることを発見した。それぞれ 20 種以上に及ぶ新規脂肪酸の化学構造をすべて決定し、^{24–28)} これらの二枚貝が、太陽エネルギーで生産された脂肪酸と全く異なる脂肪酸をその細胞膜脂質として有していることを見出した。多数の新規 n-4 族 PUFA 類は、この化学合成生態系特有で、宿主とその共生細菌が栄養を地中からの無機成分のみに依存した閉じられた生態系を作っていることが分かった。かつて懸濁物を濾過していた二枚貝が、ある時から細菌に完全に依存し、その菌は太古の時代を彷彿とさせる化学合成細菌であり、特異な脂肪酸を産生していた。一方、他の化学合成生態系には巻き貝ヨモツヘグイニナ *Ifremeria nautilei* が生息し、種々の n-6 PUFA が主成分で、副成分として DHA を除く n-3 PUFA を有していた。²⁷⁾ 化学合成生態系にはヨモツヘグイニナのように、ARA や EPA を主成分とする巻き貝もいた。深海の化学合成生態系には、特異な脂肪酸のみを有する生物群集や従来型脂肪酸を利用する動物などが、それぞれ異なった共生系を形成し発達している。^{24–28)} 表層に勝るとも劣らない極限下の深海での多様性は、いつの時代に獲得されたものだろうか。多彩な脂肪酸群は種々の化学合成細菌が膜脂質として、それぞれ独立して古来より持ち続けたものであろうか。また、いつの頃からか新たに獲得し、共生という戦略により有効に機能してきたのであろうか。

7. 天然・養殖の判別への応用 (事例 5)

食物連鎖や共生関係が脂肪酸分析により明らかにできることから、餌料環境の相違による養殖・天然の判別への応用が考えられる。養殖魚と天然魚は同一種であるた

め DNA などでは判別できないが、飼餌料が異なることから取り込む脂肪酸が異なる。的確なマーカー脂肪酸を見出せば、両者の区別が可能となる。^{18,29–30)} 本研究では、アユをモデルに検討を行った。配合飼料を用いた養殖アユと、付着珪藻などが由来の天然アユの総脂質の脂肪酸組成 (リノール/リノレン酸比) の間に大きな違いを見出し両者の判別が可能となった。³⁰⁾

8. おわりに

海洋の食物連鎖の解析に限らず、多くの研究ではオールマイティと呼べる手法はない。本研究では食物網解明に脂肪酸という新たなツールを提案した。今後は定量的な解釈も可能となると考えている。さらに、生体成分は多種類あるので、それらを利用したり、既法と異なる考え方や手法でアプローチされる場合も増えることであろう。このように全くベクトルの異なる種々の手法を組み合わせることにより、複雑な食物網がひも解かれるばかりでなく、より明確に生物そのものが理解されと考えている。同時に、海洋生物が有する成分の機能・機作の解明もますます進み、海洋化学、海洋生物学や水産化学などあたかも異なる領域であったものの境界が、今後埋まっていくものと期待される。

謝 辞

本研究にあたり、数多くの先生方や先輩諸氏、共同研究者の方々、ポスドクや非常勤として労を惜しまず手伝って頂いた方々など、多数の方のご協力やご支援を賜りました。特に、初学者の私を導いて頂いた竹内昌昭先生を始め水産研究所の沢山の先輩方のご指導に感謝しております。また、非常勤の職員の方々には、脂質の抽出・分離精製や DMOX 誘導体の調製等のルーチンワークのほとんどを担って頂きました。そのバックアップなしには、本研究の成果の発信は難しかったと思います。さらに、試料採集には、中央水産研究所付属の調査船“蒼鷹丸”の調査航海や海洋科学技術センター (JAMSTEC, 現海洋研究開発機構) の“しんかい 2000”および“しんかい 6500”の調査潜航で各機関・クルーの方々や地方公共団体や企業の研究機関の方々にご協力を頂きました。以上のように、様々な人々に支えられて本研究を進めることができました。ここに、改めて心よりお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Ackman RG. *Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils Vol. I*, CRC Press Inc, 1989.
- 2) Kattner G, Hagen W, Lee RF, Campbell R, Deibel D, Falk-Petersen S, Graeve M, Hansen BW, Hirche HJ, Jónasdóttir SH, Madsen ML, Mayzaud P, Müller-Navarra D, Nichols PD, Paffenhöfer G-A, Pond D, Saito H, Stüb-

- ing D, Virtue P. Perspectives on marine zooplankton lipids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2007; **64**: 1628–1639.
- 3) Saito H, Yamashiro R, Alasalvar C, Konno T. Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily Caesioninae (*Caesio diagramma* and *C. tile*) and family Siganidae (*Siganus canaliculatus*). *Lipids* 1999; **34**: 1073–1082.
 - 4) Saito H, Xue C, Yamashiro R, Moromizato S, Itabashi Y. High polyunsaturated fatty acid levels in the two subtropical macroalgae, *Cladosiphon okamuranus* Tokida and *Caulerpa lentillifera* J. Agardh. *J. Phycol.* 2010; **46**: 665–673.
 - 5) Tocher DR. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquacul. Res.* 2010; **41**: 717–732.
 - 6) 澤田哲志, 高橋是太郎, 羽田野六男. マグロ, カツオ眼窩油のトリグリセリド組成. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1993; **59**: 285–290.
 - 7) Saito H. Distribution of n-3 fatty acids in marine organisms: the high content of docosahexaenoic acid in the lipids of highly migratory fish of the tuna species (genera *Euthynnus*, *Thunnus*, and *Auxis*), Chemistry of Novel Foods (ed. by A. M. Spanier, M. Tamura, H. Okai and O. Mills), Allured Publishing Corp., pp. 307–323, 1995.
 - 8) Saito H, Watanabe T, Murase T. The fatty acids composition characteristic of a highly migratory fish, with seasonal Variation of docosahexaenoic acid content in lipid in of bonito (*Euthynnus pelamis*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1995; **59**: 2186–2188.
 - 9) Watanabe T, Murase T, Saito H. Specificity of fatty acids composition of highly migratory fish. A comparison of docosahexaenoic acid content in total lipids in various organs of bonito (*Euthynnus pelamis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 1995; **111B**: 691–695.
 - 10) 齋藤洋昭. 海洋生物と n-3 高度不飽和脂肪酸. 化学と生物 1996; **34**: 107–113.
 - 11) Murase T, Saito H. The docosahexaenoic acid content in the lipid of albacore, *Thunnus alalunga* caught in the two separate localities. *Fisheries Sci.* 1996; **62**: 634–638.
 - 12) Saito H, Ishihara K, Murase T. Effect of prey fish lipids on the docosahexaenoic acid content of total fatty acids in the lipid of *Thunnus albacares* yellowfin tuna. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1996; **60**: 962–965.
 - 13) Ishihara K, Saito H. The docosahexaenoic acid content in the lipid of juvenile bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught in the sea off Japanese coast. *Fisheries Sci.* 1996; **62**: 840–841.
 - 14) Saito H, Ishihara K. Docosahexaenoic acid content of fatty acids in the lipids of two species of frigate mackerels, *Auxis rocheri* and *Auxis thazard*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1996; **60**: 1014–1016.
 - 15) Saito H, Ishihara K, Murase T. The fatty acids composition in tuna (bonito, *Euthynnus pelamis*) caught at three different localities from tropics to temperate. *J. Sci. Food Agric.* 1997; **63**: 53–59.
 - 16) Saito H, Yamashiro R, Ishihara K, Xue C. Lipids of three different highly migratory species: subfamily Scombrinae (*Euthynnus affinis* and *Sarda orientalis*), and family Carangidae (*Elagatis bipinnulata*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1999; **63**: 2028–2030.
 - 17) Saito H, Seike Y, Ioka H, Osako K, Tanaka M, Takashima A, Keriko JM, Souza JCR. High docosahexaenoic acid levels in both neutral and polar lipids of a highly migratory fish: *Thunnus tonggol* Bleeker. *Lipids* 2005; **40**: 941–953.
 - 18) Saito H. Lipid characteristics of two subtropical *Seriola* fishes, *Seriola dumerili* and *Seriola rivoliana* with differences between cultured and wild varieties. *Food Chem.* 2012; **135**: 1718–1729.
 - 19) Lee FE, Nevenzel JC. Wax esters in the marine environment: origin and composition of the wax from Bute Inlet, British Columbia. *J. Fish Res. Board Can.* 1979; **36**: 1519–1523.
 - 20) Saito H, Murata M. The high content of monoene fatty acids in the lipids of some midwater fishes: family myctophidae. *Lipids* 1996; **31**: 757–763.
 - 21) Saito H, Murata M. Origin of the monoene fats in the lipid of midwater fishes: relationship between the lipids of myctophids and those of their prey. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1998; **168**: 21–33.
 - 22) Saito H, Kotani Y. Lipids of four boreal species of calanoid copepods: origin of the monoene fats of marine animals at higher trophic levels in the grazing food chain in the subarctic ocean ecosystem. *Mar. Chem.* 2000; **71**: 69–82.
 - 23) Saito H, Kotani Y, Keriko JM, Xue C, Taki K, Ishihara K, Ueda T, Miyata S. High levels of n-3 polyunsaturated fatty acids in *Euphausia pacifica* and its role as a source of docosahexaenoic and icosapentaenoic acids for higher trophic levels. *Mar. Chem.* 2002; **78**: 9–28.
 - 24) Saito H. Identification of novel n-4 series polyunsaturated fatty acids in a deep-sea clam, *Calypotogena phaseoliformis*. *J. Chromatogr. A* 2007; **1163**: 247–259.
 - 25) Saito H, Osako K. Confirmation of a new food chain utilizing geothermal energy: Unusual fatty acids of a deep-sea bivalve, *Calypotogena phaseoliformis*. *Limnol. Oceanogr.* 2007; **52**: 1910–1918.
 - 26) Saito H. Unusual novel n-4 polyunsaturated fatty acids in cold-seep mussels (*Bathymodiolus japonicus* and *Bathymodiolus platifrons*), originating from symbiotic methanotrophic bacteria. *J. Chromatogr. A* 2008; **1200**: 242–254.
 - 27) Saito H, Hashimoto J. Characteristic of the fatty acid composition of a deep-sea vent gastropod, *Ifremeria nautilei*. *Lipids* 2010; **45**: 537–548.
 - 28) Saito H. Characteristic of fatty acid composition of the deep-sea vent crab, *Shinkaia crosnieri* Baba and Williams. *Lipids* 2011; **46**: 723–740.
 - 29) Saito H, Okabe M. Characteristic of lipid composition differences between cultured and wild ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Food Chem.* 2012; **131**: 1104–1115.
 - 30) Xue C, Okabe M, Saito H. Differences in lipid characteristics among populations: Low-temperature adaptability of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Lipids* 2012; **47**: 75–92.

† icosapentaenoic acid は本来 IPA と略記すべきだが、ここでは、慣用名(trivial name)として一般的に流布する EPA と記載した。