

講演 1

酵素法による機能性脂質の製造および 皮膚の微生物を健全化する脂質

地方独立行政法人 大阪産業技術研究所 生物・生活材料研究部 脂質工学研究室長
永尾 寿浩 氏



特集 1

●はじめに

様々な食品中に含まれる脂質（油脂）は単なる栄養源ではありません。脂質の過剰摂取は肥満に繋がりますが、適度な量の脂質、特に必須脂肪酸（リノール酸など）の摂取は必要不可欠です。また、血中脂質低下や学習機能向上などの機能性を保持するドコサヘキサエン酸（Docosahexaenoic acid, DHA）や、体脂肪低減作用を持つ共役リノール酸（Conjugated linoleic acid, CLA）など、健康に寄与する食品用脂質もあれば、皮膚を健康な状態に保つ化粧品用脂質もあります。後者では、皮膚バリアの形成に関与し、皮膚に常在する微生物（皮膚菌叢, skin microbiome）と強く相関しています。

本講演では、阪技術研・脂質工学研究室が行っている酵素（リパーゼ）を用いたDHA高含有油の製造やCLA異性体の分画・精製について紹介するとともに、疾病に関与する微生物（俗語で悪玉菌）を抑制し、健康に寄与する微生物（善玉菌）を抑制しないことにより皮膚菌叢を健全化することが期待できる脂質についても紹介します。

●酵素法による機能性脂質の製造

産業的に幅広く利用されているリパーゼは、脂質（油脂）を加水分解する酵素と定義されています。一般に、アミラーゼなどの他の酵素や化学反応では、加水分解の逆反応であるエステル化が水過剰下で起こりにくいですが、リパーゼは水過剰下でもエステル化が効率よく進行するという特徴を有しています。その機構はリパーゼの立体構造から説明可能です（図1）。リパーゼが水に溶解している時、活性中心（酵素が触媒作用を発揮する部分）が「リッド, Lid」と呼ばれる α -ヘリックスで覆われ（蓋が閉じている）、基質である脂質が活性中心に接近できません。しかし、水に溶けない脂質（油層）が存在すると、リパーゼが水層と油層の界面に吸着し、活性中心を覆う「リッド」が開き（蓋が開く）、活性中心への基質の進入が可能となります。重要なことは、油層中の水

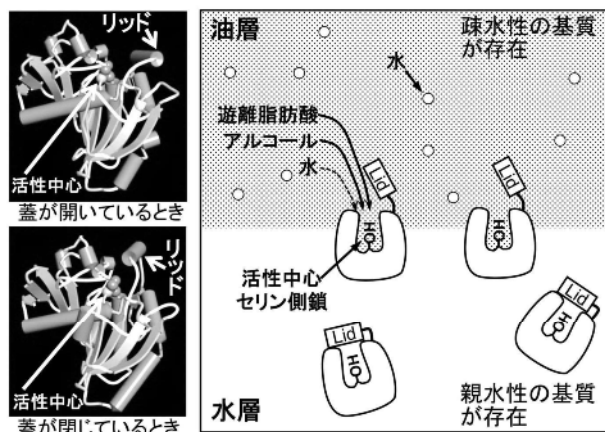


図1 リパーゼの立体構造と水・油界面での挙動

実際の反応系では攪拌により水と油をエマルション化させるが、図では水層と油層の界面付近を模式的に示しており、静置反応で二層に分離しているという意味ではない。左側は *Rhizomucor miehei* 由来リパーゼの立体構造。中性脂質、遊離脂肪酸、脂肪酸エステル、高級アルコール、メントールなどの疎水性基質は油層に、グリセロールなどの親水性基質は水層に存在している。

分量が低いことです。オレイン酸とメントールのエステル化の場合、油層中の水分量が0.4%以下でした。その結果、活性中心に進入可能な物質はオレイン酸とメントールであり、含量の低い水はあまり進入しないことから、エステル化が効率良く進行します（エ



講師 永尾 寿浩 氏

ステル化率約80%)。この性質を利用し、リノール酸(皮膚の褐色化色素・メラニンの産生抑制作用を保持)を多く含む紅花油から合成したリノール酸メントールエステルが化粧品に配合されています。

酵素反応の特徴は基質特異性を有することです。産業的に最も幅広く利用されている *Candida rugosa* 由来のリパーゼは、オレイン酸やリノール酸などに良く作用しますが、優れた機能性を有するDHAなどに対する作用性が低くなっています。この性質を利用し、不要な脂肪酸を選択的に加水分解することにより、マグロ油からDHA高含有油が製造されています。また、マグロ油とDHA高含有油の分子種分析から、DHAが高濃度化される反応機構を説明することが可能であり、選択的加水分解反応だけでなく、エステル転移反応なども関与する非常に複雑な反応系であることが分かりました。

リノール酸の幾何・位置異性体であり、紅花油からアルカリ共役法で製造されるCLAの市販標品は、体脂肪低減や血圧上昇抑制などの機能性を保持し、主として9-*cis*,11-*trans*-CLAと10-*trans*,12-*cis*-CLAの2種の異性体の等量混合物です。このCLA異性体等量混合物から、リパーゼを用いて各CLA異性体を分画・精製することが可能です。この工程では、10-*trans*,12-*cis*-CLAよりも9-*cis*,11-*trans*-CLAに対する作用性の高い *C. rugosa* 由来リパーゼが効果的であり、5つの分画・精製工程を確立しました。最も純度の高い標品が得られる工程では、2種のCLA異性体の合計に対する各CLA異性体の比を95%以上に分画・精製することができました。さらに、得

られた各CLA異性体を佐賀大学・柳田教授らに供与して動物試験を行った結果、10-*trans*,12-*cis*-CLAが体脂肪低減作用の主体であること、同異性体に血圧上昇抑制作用があることを見出しました。

これらの研究の他にも、当研究室では、アラキドン酸、ジホモγリノレン酸、トコフェロール、植物ステロール、植物ステロールエステル、アスタキサンチン、中鎖脂肪酸とアラキドン酸で構成される構造脂質、DHA含有リン脂質の製造や精製に関する研究、リパーゼの基質特異性に関する研究、リパーゼ遺伝子のクローニング・発現・構造と機能の解析に関する研究も行ってきました。

●微生物変換による希少脂質の製造

大阪城の土壌から単離した細菌 *Aeromonas hydrophila* は、植物油を基質として、脂肪酸と脂肪酸アルコールのモノエステル体(ワックス)を菌体内に蓄積しました(図2)。このワックス内の脂肪酸は、β-酸化の作用により、基質の構成脂肪酸よりも炭素数が2または4個少ない脂肪酸を含んでいました。例えば、オレイン酸(9-*cis*-C18:1)を豊富に含む菜種油を基質としたとき、パルミトレイン酸異性体(7-*cis*-C16:1)とミリストレイン酸異性体(5-*cis*-C14:1)などの天然油脂中に希少な不飽和脂肪酸に変換されました。同時に生産される不飽和脂肪酸アルコールも希少な脂質でした。これらの物質は、希少であるが故にその機能性は不明ですが、筆者の最近の研究では、パルミトレイン酸異性体および天然油脂に含まれるパルミトレイン酸

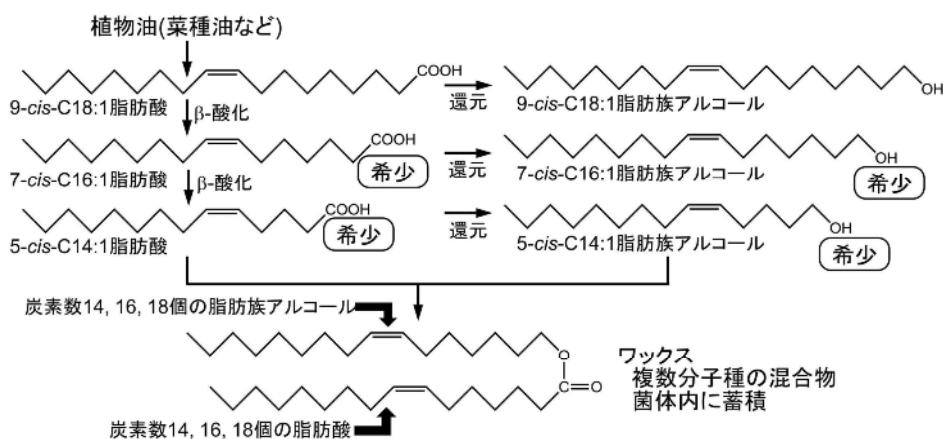


図2 *Aeromonas hydrophila* による植物油からの希少な不飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸アルコールの生産

(9-*cis*-C16:1) の機能性を見出しました (次節)。

また、別に単離した細菌 *Acinetobacter* sp. も植物油を基質として菌体内にワックスを蓄積しました。この菌株は、基質の構成脂肪酸の炭素数をあまり減少させず (炭素数を保つ)、アラキドン酸をアラキドニルアルコールに効率良く変換する機能がありました。生成した物質は、生体内のカンナビノイドレセプターに結合する 2-アラキドニルグリセロールエーテルの合成に利用できます。

●皮膚の微生物を健全化する脂質

ヒトの皮脂中に存在するサピエン酸 (6-*cis*-C16:1, パルミトレイン酸の二重結合の位置が異なる異性体) は、アトピー性皮膚炎 (Atopic dermatitis, AD) の増悪化などの数多くの疾病に関与する微生物・黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) に対する抗菌活性を保持します。健常者の皮脂中のサピエン酸含量は平均 $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ですが、この脂肪酸で黄色ブドウ球菌がほぼ抑制され、健全な皮膚菌叢が維持されています。しかし、AD の炎症部ではサピエン酸などの皮脂量が減少して黄色ブドウ球菌の抑制のタゲが外れます。その結果、皮膚菌叢のバランスが崩れ、黄色ブドウ球菌が顕著に増加して AD の炎症悪化に繋がります。サピエン酸を皮膚に供給すれば良いと考えられますが、この物質は天然油脂からの有効な供給源がありません。そこで、限定的な植物油中に存在するパルミトレイン酸および前節に記載のパルミトレイン酸異性体は、弱酸性条件下で、黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を保持するが、健康に寄与する微生物・表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*, 近年、美肌菌として化粧品業界で注目を集め始めている) には作用しないという選択的抗

菌活性を見出しました。この性質を利用し、現在、皮膚菌叢を健全化させ、AD などの皮膚疾患の予防を目指す研究を行なっています。当研究室は「脂質」「リパーゼ」「微生物」が専門であることから、複数のパルミトレイン酸素材開発の研究などを行っています。

●おわりに

人によって意見が異なることですが、筆者の考えを述べます。現代人、特に日本人は、過度の綺麗好きではないでしょうか。石鹸で体をゴシゴシと洗い、殺菌・除菌剤で皮膚菌叢をトコトン排除することは、本当に良いことでしょうか。それらの行為は、有害物質を遮断する機能を持つ皮脂と、健康に寄与する微生物を取り除くことであり、アレルギー物質や、疾病に関与する微生物が侵入しやすくなります。皮脂と皮膚菌叢を全て排除した場合、ここに黄色ブドウ球菌などの疾病に関与する微生物が入ってきたとしたら、それが顕著に増加し、疾病を引き起こさないでしょうか。もちろん、体の汚れや臭いを除去するために石鹸などで体を洗うこと、および食中毒菌や疾病に関与する微生物を排除するための殺菌・除菌は必要不可欠です。しかし、それが過度になってはダメと考えています。適度な洗浄で皮脂量を健全な状態に保たせ、適度な殺菌・除菌で皮膚菌叢を健全な状態に保たせておくことが肝要であると思います。また、職業上、手などに対する十分な殺菌が必要な方は、手洗い等により皮脂が減った場合、皮脂に近い油脂を含んだ保湿剤入りハンドクリームで皮脂を補うのが良いと思います。それにより、減少した皮膚菌叢は健康な状態に回復すると考えられます。

