

食と健康をつなぐ腸内細菌の脂肪酸代謝と代謝物の生理機能

小川 順, 岸野 重信

著者らは、食事脂質に由来する不飽和脂肪酸が腸内細菌により飽和化され、代謝物として水酸化脂肪酸、オキシ脂肪酸、エノン脂肪酸などを生成することを見いだすとともに、関与する酵素群の機能・腸内細菌分布を明らかにした。また、腸内細菌代謝物の宿主組織における存在を確認した。さらに、これらの代謝物の生理機能を評価し、代謝改善機能を示すこと、腸管・口腔上皮バリアの損傷を回復すること、免疫調節・抗炎症作用を持つことなどを見いだした。加えて、水酸化脂肪酸にヒト試験において血糖値上昇抑制作用を確認した。すなわち、腸内細菌の脂肪酸代謝に依存して特異的に生成する代謝物が、宿主の健康に影響を与えている可能性が示された。今後、食事脂質の脂肪酸組成と腸内細菌の脂肪酸代謝の相互作用が健康維持において持つ役割が明らかになると期待される。

1. はじめに

近年、腸内細菌が宿主の健康状態に対して少なからず影響を与えていることが明らかにされてきている。腸内細菌の機能に関しては、主に、

- 1) 腸内細菌成分そのものの影響（死菌でも機能発現）
- 2) 腸内細菌の発酵生産物を介した影響
- 3) 腸内細菌の代謝活性ならびにその代謝物（食品成分の代謝物）を介した影響

の三つの発現様式が考えられる。1) の例としては、リポ多糖（LPS）などの腸内細菌構成成分とToll様受容体（TLR）などの宿主受容体との相互作用による機能発現（免疫調節など）があげられる。2) の例としては、食物繊維（多糖類）の腸内細菌による発酵により生じた酢酸・プロピオン酸・酪酸などの短鎖脂肪酸が示す抗炎症作用や代謝制御作用（抗肥満）があげられる。3) の例としては、腸内細菌代謝が宿主代謝を増強あるいは抑制することによる食品機能性成分の吸収促進あるいは抑制、さらには、宿主にはない代謝活性により生成する腸内細菌に特異な代謝物を介した影響、があげられる。健康寿命の延伸において

特に重要となる食を介した健康維持に関し、上述した腸内細菌の影響はきわめて重要である。特に、食品成分の潜在機能の顕在化、さらには、食品成分の新たな機能の創出において、3) に示した腸内細菌代謝やその代謝物の影響を理解することの重要性が高まっている。

このような背景のもと、著者らは、メタボリックシンドロームの増加とも関連が深い食品成分である脂質について、その腸内細菌代謝と代謝物の生理機能に関する研究を行ってきた。本稿では、食事由来する脂質の腸内細菌代謝に関するこれまでの知見の詳細と、腸内細菌脂質代謝物が健康に与える影響に関する最新の知見を紹介する。

2. 腸内細菌における脂肪酸代謝

食事に由来する脂質は、十二指腸で胆汁により乳化され、膵リパーゼの働きでモノアシルグリセロールと遊離脂肪酸に分解される。モノアシルグリセロールと遊離脂肪酸は、胆汁酸の働きによりミセルとなり小腸より吸収されるが、一部吸収しきれなかったものは大腸に達する。遊離脂肪酸の中でも、遊離不飽和脂肪酸は、多くの細菌に対し生育阻害を示す。腸内細菌に代表される嫌気性細菌は、この生育阻害を回避する解毒機構として、遊離不飽和脂肪酸をより毒性が低い遊離飽和脂肪酸へと変換することが知られていた。1960年代にその概要が*Butyrivibrio fibrisolvens*において解析され¹⁾、さまざまな生理活性が報告されている共役脂肪酸（分子内に共役した二重結合を有する脂肪酸）²⁾ が代謝中間体となっていることが示されていたが代謝の詳細は不明であった³⁾。我々は、腸内細菌の一種である乳酸菌を用いて腸内細菌に特異な不飽和脂肪酸代謝を探

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻（〒606-8502 京都市左京区北白川追分町）

Gut microbial fatty acid metabolism and metabolite's function connecting foods and health

Jun Ogawa and Shigenobu Kishino (Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa-oiwakecho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910492

© 2019 公益社団法人日本生化学会

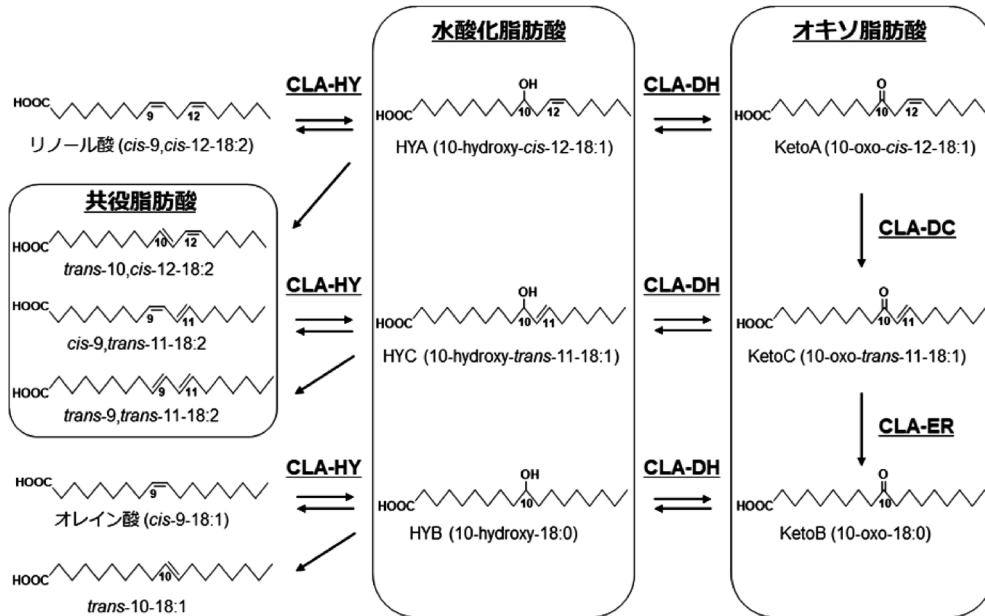


図1 腸内細菌の不飽和脂肪酸飽和化代謝

索し、興味深い代謝を複数見いだしている。

1) 不飽和脂肪酸の飽和化

我々は、腸内細菌の一種であり、小腸での存在も報告されている乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* が食事脂質の主な構成脂肪酸であるリノール酸を共役化する際に水酸化脂肪酸を副生することを見いだしていた⁴⁾。引き続き代謝解析の結果、不飽和結合への水和反応とそれに続く脱水を伴う二重結合の転位反応により、リノール酸が共役化されることを解明した⁵⁻⁷⁾。この共役異性化反応を酵素レベルで解析する過程で、CLA-HY, CLA-DH, CLA-DC, CLA-ERと名づけた四つの酵素によりリノール酸が飽和化される特異な代謝を見いだした⁸⁻¹⁰⁾。本代謝においては、リノール酸がオレイン酸 [*cis*-9-octadecenoic acid (18:1)] ならびに *trans*-10-18:1 へと、C10水酸化体 (10-hydroxy-*cis*-12-18:1, HYA), C10オキソ体 (10-oxo-*cis*-12-18:1, KetoA), C10エノン体 (10-oxo-*trans*-11-18:1, KetoC) といった特徴的な代謝中間体を経て飽和化される (図1)¹⁰⁾。すなわち、リノール酸の水酸化脂肪酸への水和 (CLA-HYが触媒)、水酸化脂肪酸の酸化 (CLA-DHが触媒) と引き続き二重結合の転移によるエノンの生成 (CLA-DCが触媒)、さらには、エノンを構成する炭素-炭素二重結合への水素添加 (CLA-ERが触媒) を経て、それまでの反応を折り返すように進行するカルボニル還元による水酸基の生成 (CLA-DHが触媒)、脱水反応 (CLA-HYが触媒) による二重結合の生成を経て飽和化を完結する一連のルートを主経路とし、さまざまな水酸化脂肪酸、オキソ脂肪酸、共役リノール酸を生じる分岐路を伴った複雑な代謝経路が明らかにされた。さらに、 α -リノレン酸や γ -リノレン酸などの炭素数18で Δ 9位と Δ 12位に二重結合を持つ不飽和脂肪酸を基質とした際にも、同様の代謝経路によりさまざまな水酸化脂肪酸やオキ

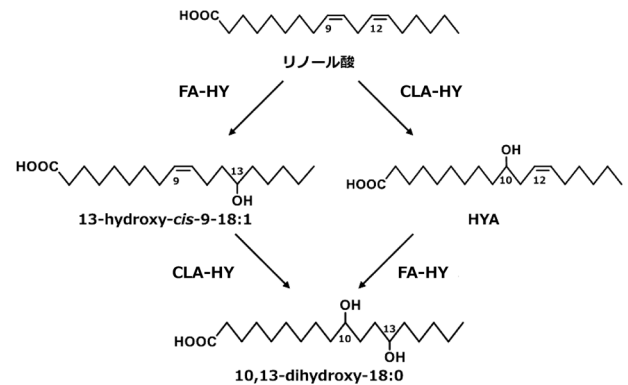


図2 腸内細菌による不飽和脂肪酸の水和反応

ソ脂肪酸、共役脂肪酸、二重結合が一つ飽和化された部分飽和脂肪酸が生成することが明らかとなった。

2) その他の不飽和脂肪酸代謝

Lactobacillus 属乳酸菌に見いだされた不飽和脂肪酸の飽和化代謝は、炭素数18の脂肪酸に対して特異的な、 Δ 9位の二重結合への水和反応によるC10水酸化脂肪酸の生成を起点とする代謝であったが、嫌気性細菌に幅広く飽和化代謝を探索することにより、さまざまな不飽和脂肪酸変換反応を見いだすことができた。

i) Δ 12位の二重結合への水和反応を起点とする代謝

乳酸菌 *Pediococcus* sp. AKU 1080によるリノール酸変換において、CLA-HY産物である10-hydroxy-*cis*-12-18:1 (HYA) のみならず13-hydroxy-*cis*-9-18:1および10,13-dihydroxy-18:0が生成することを見いだした (図2)¹¹⁾。

ii) 炭素数20の脂肪酸の代謝

上述の乳酸菌による不飽和脂肪酸飽和化代謝は、炭素数18の脂肪酸に限定される。そこで、炭素数20の遊離型脂肪酸であるアラキドン酸 [*cis*-5,*cis*-8,*cis*-11(ω 9),*cis*-14

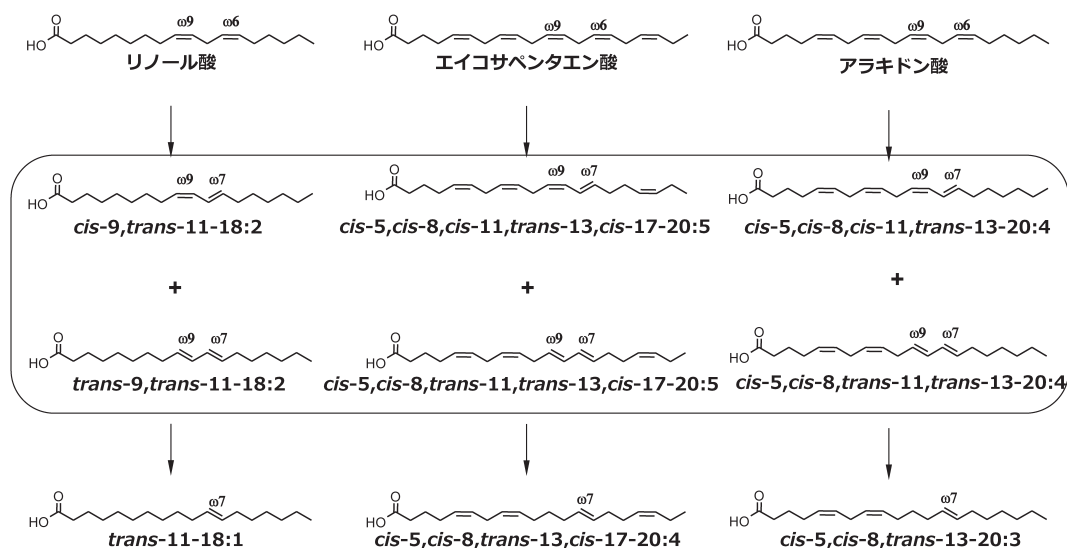


図3 *Clostridium bifermentans* による不飽和脂肪酸の変換

(ω 6)-eicosatetraenoic acid (20:4) やエイコサペンタエン酸 [EPA; *cis*-5,*cis*-8,*cis*-11(ω 9),*cis*-14(ω 6),*cis*-17-eicosapentaenoic acid (20:5)] を変換する微生物の探索を行った。その結果、嫌気性細菌 *Clostridium bifermentans* の洗浄菌体（培養後の菌体を遠心分離により集菌し洗浄、再遠心分離した湿菌体）がアラキドン酸、EPA を変換することを見いだした¹²⁾。

C. bifermentans の洗浄菌体を炭素数18のリノール酸や炭素数20のアラキドン酸、EPA を基質とする反応に供したところ、対応する共役脂肪酸の他に、基質よりも二重結合の数が一つ少ない脂肪酸の生成を確認した。これらの脂肪酸の構造解析を行ったところ、リノール酸からの生成物を *trans*-11-18:1、アラキドン酸からの生成物を *cis*-5,*cis*-8,*trans*-13-eicosatrienoic acid (20:3)、EPA からの生成物を *cis*-5,*cis*-8,*trans*-13,*cis*-17-20:4 と同定した¹²⁾。いずれの反応においても、基質として加えた脂肪酸が部分飽和化され、二重結合の数が一つ減少したユニークな部分飽和脂肪酸が生成した。また、反応における基質濃度の影響および経時変化の検討から、基質を飽和化する際の反応中間体として共役脂肪酸の生成が観察された。すなわち、*C. bifermentans* は *cis*- ω 6,*cis*- ω 9 脂肪酸を *trans*- ω 7,*cis*- ω 9 および *trans*- ω 7,*trans*- ω 9 共役脂肪酸へと変換した後、*trans*- ω 7 脂肪酸へと飽和化する代謝活性を有していた（図3）。

3) 不飽和脂肪酸飽和化代謝に関わる酵素群の諸性質

i) Δ 9 位特異的不飽和脂肪酸水和酵素

炭素数18の脂肪酸の Δ 9位の二重結合への水和反応によるC10位水酸化脂肪酸の生成に関わる *L. plantarum* AKU 1009a 由来 CLA-HY は52kDaの単量体酵素であり、FAD を補酵素とし、NADH の添加により活性が上昇することを見いだした。本酵素により生産された10-hydroxy-*cis*-12-18:1、10-hydroxy-*cis*-12,*cis*-15-18:2、10-hydroxy-*cis*-6,*cis*-12-18:2の水酸基の立体構造を解析したところ、い

れも *S* 体 (99% *e.e.* 以上) であり、立体選択性が高いことが明らかになった¹³⁾。

ii) Δ 12 位特異的不飽和脂肪酸水和酵素

リノール酸を13-hydroxy-*cis*-9-18:1へ変換する酵素である *L. acidophilus* NTV001 由来のFA-HY はフラビン依存性酵素であり、FAD の添加により水和活性が上昇した。基質特異性を検討した結果、リノール酸、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸を各々対応するC13位水酸化脂肪酸へ変換すること、ならびにC13位水酸化脂肪酸を基質とした脱水反応を触媒することを確認した。また、10-hydroxy-*cis*-12-18:1 から10,13-dihydroxy-18:0を生成した。さらに本酵素は、炭素数18の脂肪酸のみならず、アラキドン酸 (C15水酸化体を生成)、ジホモ- γ -リノレン酸 (C12ならびにC15水酸化体を生成) などの炭素数20の脂肪酸、さらには、炭素数22のドコサヘキサエン酸 (DHA) (C14水酸化体を生成) にも作用した。本酵素により生産された13-hydroxy-*cis*-9-18:1、13-hydroxy-*cis*-9,*cis*-15-18:2の水酸基の立体構造を解析したところ、それぞれ *R* 体、*S* 体を選択的に生成していることが明らかになった¹⁴⁾。

iii) 水酸化脂肪酸脱水酵素

水酸化脂肪酸からのオキソ脂肪酸の生成に関わる酵素 CLA-DH (水酸化脂肪酸脱水酵素) は、short-chain dehydrogenases/reductases family に属する酵素であり、10-hydroxy-*cis*-12-18:1 の10-oxo-*cis*-12-18:1への変換を可逆的に触媒する酸化還元酵素である。*L. plantarum* AKU 1009a 由来 CLA-DH は、32kDaの単量体酵素であった。本酵素の酸化・還元反応における補酵素はNAD⁺・NADHであり、本酵素の還元活性は、酸化活性の約5倍であった。また、本酵素が、10位に水酸基を有する脂肪酸だけでなく、12位や13位に水酸基を有する脂肪酸にも作用する基質特異性の広い脱水酵素である一方、2位や3位に水酸基を有する脂肪酸などの既知のアルコール脱水酵素の基質には作用しない新規なアルコール脱水酵素であることが明らか

になった。還元反応により生成するアルコールにはS体、R体が共存しており、立体選択性が低いことが明らかになった¹⁵⁾。

iv) エノン脂肪酸飽和化酵素

CLA-ERは、リノール酸飽和化代謝において10-hydroxy-trans-11-18:1のトランス型 Δ 11二重結合を飽和化して10-oxo-18:1を生成するエノンレダクターゼである。本酵素は、NADH oxidase/flavin reductase familyのなかでエノン脂肪酸の飽和化活性を示す唯一の酵素である。著者らは、FMNを補因子として有するホロ型CLA-ERの結晶構造解析により、本酵素のエノン脂肪酸認識様式を解明した。CLA-ERは特徴的なキャップ構造を有し、このキャップ構造がエノン脂肪酸結合時に大きな立体構造変化を起こすことを明らかにした。エノン脂肪酸結合部位は、片側が正に荷電した砂時計様の形状となっており、エノン型の遊離脂肪酸を認識するのに適した構造を有していた¹⁶⁾。

v) 不飽和脂肪酸飽和化代謝の腸内細菌分布

L. casei, *L. rhamnosus*といった乳酸桿菌には、*cla-dh*, *cla-dc*, *cla-er*から構成される遺伝子クラスターと*cla-hy*からなる不飽和脂肪酸飽和化代謝系酵素群のすべての遺伝子が、*L. plantarum*と同様に見いだされた。相同遺伝子は特に乳酸桿菌群に広く分布し、複数の相同遺伝子が*L. salivarius* (*cla-hy*, *cla-dc*, *cla-er*), *L. amylovorus* (*cla-dh*, *cla-er*), *L. helveticus* (*cla-dh*, *cla-er*), *L. crispatus* (*cla-dh*, *cla-er*), *L. johnsonii* (*cla-dh*, *cla-er*) に、いずれか一つの相同遺伝子が*L. brevis* (*cla-hy*), *L. sakei* (*cla-hy*), *L. buchneri* (*cla-hy*), *L. gasseri* (*cla-er*), *L. acidophilus* (*cla-er*) に見いだされた。乳酸桿菌以外にも、*Enterococcus*属 (*cla-hy*), *Clostridium*属 (*cla-dh*もしくは*cla-dc*), *Brevibacillus*属 (*cla-dh*), *Slackia*属 (*cla-dc*) の細菌に相同遺伝子が見いだされ、さまざまな腸内細菌に相同遺伝子が存在することが判明した¹⁰⁾。

3. 不飽和脂肪酸飽和化代謝物の宿主における存在

通常飼料を用いて飼育した際のspecific-pathogen-free (SPF) マウス、無菌 (GF) マウスの結腸、小腸、血漿における遊離脂肪酸分析の結果、不飽和脂肪酸飽和化代謝の初期反応産物である水酸化脂肪酸が顕著に見いだされるとともに、一部のオキシ脂肪酸の存在を確認した。具体的には、オレイン酸の初期代謝物である10-hydroxy-18:0とその酸化産物である10-oxo-18:0、さらには、リノール酸の初期代謝物である10-hydroxy-cis-12-18:1 (HYA) と13-hydroxy-cis-9-18:1が、100mg組織もしくは100 μ L血漿中に数100~数1000pgと微量ながらも有意に見いだされた。見いだされた水酸化脂肪酸の量は、SPFマウスにおいてGFマウスよりも顕著に多かったことから、これらの脂肪酸が腸内細菌の存在に依存して生成し、組織移行していることが示された¹⁰⁾。さらに、SPFマウス腸管内容物 (糞便) 中の遊離脂肪酸を分析した結果、オレイン酸、リノール酸、

α -リノレン酸といった食事脂肪酸に由来する水酸化脂肪酸、オキシ脂肪酸 (エノン脂肪酸) など、多様な代謝物が存在すること、その濃度は多いもので1 μ Mから100 μ Mのオーダーであること、さらには、食事脂肪酸と代謝物の存在比が10:1から1:10であることなどが明らかとなった。

4. 腸内細菌が産生する不飽和脂肪酸代謝物の生理機能

乳酸菌由来脂肪酸変換酵素を発現する形質転換大腸菌を活用して不飽和脂肪酸代謝物を酵素合成し、培養細胞系やマウスを用いて、その生理機能解析を行った。以下に最近見いだした、代謝異常改善作用、バリア機能増強効果、抗炎症作用の詳細を述べる。これら以外にも、水酸化脂肪酸・オキシ脂肪酸に、核内受容体LXR (liver x receptor) のアンタゴニストとしての機能を介した脂質合成抑制¹⁷⁾、エノン脂肪酸の転写調節因子Nrf2 (NF-E2-related factor 2) を介した抗酸化¹⁸⁾、HYAの*Helicobacter pylori* (ピロリ菌) への抗菌作用 (ピロリ菌に特異的なメナキノン生合成系・フタロシン経路を阻害) など¹⁹⁾、興味深い機能を見いだしている。

1) 肥満に伴う代謝異常症の改善

代謝物のエネルギー代謝調節機構の鍵を握る分子として、脂質代謝制御などさまざまな生理現象に関与する核内受容体PPAR、ならびに、transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) に着目した。

PPARsの活性化作用について、培養細胞を用いたレポーターアッセイによる評価を行ったところ、食事脂質に由来する腸内細菌脂肪酸代謝物の多くがPPAR α に対する強いアゴニスト活性を示した²⁰⁾。また、いくつかの腸内細菌脂肪酸代謝物はPPAR γ に対しても強いアゴニスト活性を示した。PPAR α , PPAR γ の両者に対してデュアルアゴニストとして機能したリノール酸由来の代謝物10-oxo-cis-12-18:1 (KetoA) に着目し (リノール酸はデュアルアゴニスト活性を示さない)、前駆脂肪細胞3T3-L1の分化過程での添加効果を評価したところ、中性脂肪蓄積量、分化関連遺伝子の発現量が増加し、これらの作用はPPAR γ アンタゴニストの共添加により消失した。また、KetoA処理により、アディポネクチン分泌能、糖取り込み能の増強が認められた²⁰⁾。これらの脂肪細胞分化促進作用は、インスリン感受性細胞の数を増やし、抗糖尿病作用の発現につながる。続いて、肥満・糖尿病モデル動物であるKK-Ayマウスに対して4週間のKetoA混餌投与を行った。その結果、0.1% KetoA摂取群において、体重増加の抑制ならびに体脂肪蓄積の抑制が認められ、摂取開始2週目以降に血糖値の上昇抑制が認められた。また、血中中性脂肪量の低下も認められた。

TRPV1は交感神経活性化を介してエネルギー代謝を亢進する。そこで、腸内細菌脂肪酸代謝物のTRPV1活性化能および、それを介した生体内でのエネルギー消費亢進作

用について検討した²¹⁾。TRPV1 活性化作用について、培養細胞を用いたカルシウムイメージングにより評価したところ、KetoA に強い活性化能を認めた。KetoA はパッチクランプにおいても TRPV1 を活性化することが明らかとなった。また、TRPV1 の主な発現部位である感覚神経節から単離した神経細胞においても KetoA は TRPV1 を活性化することが認められた。そこで次に動物個体レベルでの作用を検討するため、食餌誘導性肥満モデル動物である C57BL/6 マウスに対する 10 週間の混餌投与を行った²¹⁾。その結果、0.1% KetoA 摂取群において、体重増加抑制・体脂肪蓄積抑制作用およびインスリンやレプチンなどの血中パラメータの改善が認められた。また、酸素消費量および直腸温の上昇が認められたため、褐色脂肪組織などにおいてエネルギー消費に重要な脱共役タンパク質 1 (UCP1) 発現量について検討したところ、KetoA 摂取群において、鼠径部白色脂肪組織における UCP1 発現量の増加が認められた。一方、TRPV1 ノックアウトマウスでは KetoA 摂取による上記の変化はいずれも認められなくなった。したがって、KetoA 摂取は TRPV1 活性化を介してエネルギー消費を亢進させることが示唆された²¹⁾。

以上の結果から、KetoA は PPAR α , PPAR γ , TRPV1 に対する活性化作用を有しており、KetoA 摂取は肥満に伴う代謝異常症の予防・改善作用を示すことが示唆された。

2) 水酸化脂肪酸の上皮細胞バリア機能増強効果

リノール酸の初期代謝物である水酸化脂肪酸 10-hydroxy-cis-12-18:1 (HYA) に、腸管上皮細胞やデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性腸炎モデルマウスでの *in vitro* ならびに *in vivo* 評価において、脂肪酸受容体 GPR40 との相互作用を介してバリアの損傷を回復する機能が見いだされた²²⁾。

この成果に基づき、HYA が歯肉上皮バリア機能へ与える影響を評価した²³⁾。歯肉上皮細胞株 Epi4 における脂肪酸受容体 GPR40 の発現を PCR 法および免疫染色にて確認した。HYA による GPR40 の活性化は、代表的な歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* によって誘発されるバリア機能低下を有意に阻害した。具体的には、上皮バリアの基本的な構成要素である E-カドヘリンおよび β -カテニンの分解が、*in vitro* での評価において、HYA により GPR40 依存的に抑制された。加えて、歯周炎モデルマウスにおける HYA の経口接種は、歯肉組織における E-カドヘリンの細菌誘発性分解およびそれに続く炎症性サイトカイン産生を抑制した²³⁾。

これらの結果は、HYA が腸炎や歯周病における炎症反応の抑制に寄与することを示すものであった。

3) 水酸化脂肪酸、オキソ脂肪酸による抗炎症作用

HYA については、マウス腸細胞ならびに骨髓系樹状細胞を用いた *in vitro* 評価系において、炎症性サイトカインの産生を抑制することを見いだしている²⁴⁾。これらの結

果から、HYA が腸管において抗炎症作用を示すことが期待された。また、HYA が Th1/Th2 バランスを改善し、マウスのアトピー性皮膚炎様症状の悪化を抑えることが示された²⁵⁾。

一方、マクロファージモデル細胞 RAW264.7 細胞を用い、LPS 刺激下で誘導される炎症性メディエーター、NO の産生能について評価を行った。その結果、リノール酸、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸由来の腸内細菌脂肪酸代謝物であるエノン型オキソ脂肪酸 [それぞれ 10-oxo-trans-11-18:1 (KetoC), 10-oxo-trans-11,cis-15-18:2 (α KetoC), 10-oxo-cis-6,trans-11-18:2 (γ KetoC)] に強い抗炎症活性が認められた。これらの脂肪酸は、LPS 刺激した RAW264.7 細胞から分泌される TNF- α , MCP-1 の発現についても、mRNA, タンパク質レベルで抑制した。肥満状態での脂肪組織で起こる炎症反応について検討するために 3T3-L1 脂肪細胞と RAW264.7 マクロファージの共培養系および分化・肥大化させた 3T3-L1 脂肪細胞の培養液上清を用いて炎症性メディエーターの発現量を評価したところ、エノン型オキソ脂肪酸添加群において発現低下が認められた²⁶⁾。このように、マクロファージによる炎症性因子の産生を抑制するエノン型オキソ脂肪酸は、肥満状態の脂肪組織における慢性炎症状態を緩和する可能性が示唆された。

また、 α -リノレン酸の代謝物が抗炎症性 M2 型マクロファージへの分化誘導を促進し、全身性の慢性炎症を緩和することが報告されている。そこで、 α -リノレン酸ならびにその脂肪酸代謝物が、腸管粘膜免疫系に及ぼす影響について調べた²⁷⁾。その結果、 α -リノレン酸の存在により腸管では特徴的に MCP-1 が分泌され単球が腸管に遊走しうること、 α -リノレン酸由来の腸内細菌脂肪酸代謝物である水酸化脂肪酸やオキソ脂肪酸が、腸管を Th2 サイトカイン優位な環境に制御し M2 型マクロファージへの分化誘導を促進することが示唆された。また、そのメカニズムとして、核内受容体 PPAR γ や長鎖脂肪酸受容体 GPR40 の関与を観察した²⁷⁾。加えて、マウス (C57BL/6, 雄) への α -リノレン酸ならびに α -リノレン酸に由来する腸内細菌脂肪酸代謝物である水酸化脂肪酸やオキソ脂肪酸の経口投与 (1g/kg BW/day, 3 日間) により、小腸粘膜固有層やパイエル板において M2 型マクロファージが有意に集積しているようすが観察された²⁷⁾。このような現象に起因して、肥大化した脂肪細胞などの慢性炎症の組織において M2 型マクロファージの浸潤が増加することは炎症抑制、ひいては生活習慣病の緩和につながると考えられた。

5. ヒト試験における水酸化脂肪酸の血糖値改善作用の評価

高血糖は血管内皮障害や炎症を引き起こすが、特に食後の数時間の血糖値の急上昇 (血糖値スパイク) により血管が損傷し、動脈硬化が進み、心筋梗塞や脳梗塞のリスクが高まるといわれている。GPR40, GPR120 のリガンドはイン

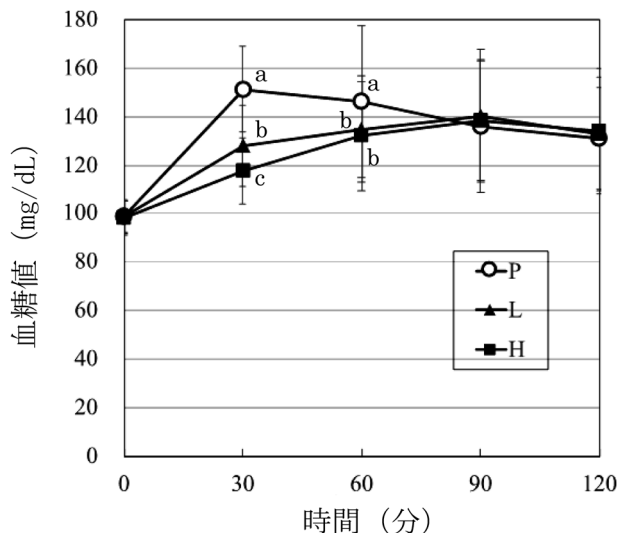


図4 HYA含有食品摂取時の食後血糖値
 平均値±S.D. (N=55). a, b, c異符号間に有意差あり ($p<0.01$, Tukey's multiple comparison testによる). P: プラセボ摂取, L: HYA 1000mg含有食品摂取, H: HYA 2000mg含有食品摂取.

クレチン誘導を介した糖尿病の治療の標的として着目されており, GPR40, GPR120に対してアゴニスト活性を有するHYAに血糖値を改善する作用が期待できると考えられた.

そこで, 食後血糖値が上昇しやすい方60名を対象として, 純度50%のHYAを含有するカプセル(HYA含有食品)を摂取したときの食後血糖への影響が検討された. 試験デザインは3way-無作為化二重盲検クロスオーバー試験とし, プラセボ摂取群, HYA 1000mg含有食品摂取群, HYA 2000mg含有食品摂取群の3群を比較した. 試験食品を水またはぬるま湯とともに噛まずに摂取させ, 摂取後, 負荷食品(米飯300g)および補助食品(親子丼のもと210g)を10分かけて摂取させた. 負荷食品摂取前, 摂取後30, 60, 90および120分後に採血し, 血糖値を測定した. 主要評価項目である血糖AUCは, HYAの低用量摂取(1000mg), HYAの高用量摂取(2000mg)ともに, プラセボと比較して有意に低値を示した. また, 副次評価項目である負荷食品摂取後30分および60分の血糖値, 血糖Cmaxも, プラセボと比較して, HYAを低用量および高用量摂取することで有意に低値を示した. 以上の結果より, HYAを含有する食品を食直前に単回摂取することで, 食後の血糖値上昇を有意に抑制することが確認された(図4)²⁸⁾.

6. おわりに

このように, 腸内細菌に新たな不飽和脂肪酸代謝が見いだされるとともに, その代謝物が宿主に移行し, 宿主の脂肪酸組成に影響を与えていることが明らかとなった. また, 代謝物に関して, 代謝される前の食事由来脂肪酸にはみられない腸管バリア機能制御, 脂肪酸合成・脂質代謝制御, 免疫制御, 炎症抑制など興味深い機能が見いださ

れた. これらの知見は, 以前より抗炎症, 抗肥満効果が報告されてきた不飽和脂肪酸と乳酸菌などの腸内細菌に関して, その機能発現の実態の一部を化合物レベルで説明するものである.

一方, 2014年に水酸化脂肪酸の脂肪酸エステル(FAHFA)が抗炎症・抗糖尿病活性を有する新規な内因性脂質として報告された²⁹⁾. しかし, この脂質の部分構造である水酸化脂肪酸の由来は判明していない. 水酸化脂肪酸が腸内細菌に由来する可能性, ならびに, FAHFAの生理機能が腸内細菌脂肪酸代謝物である水酸化脂肪酸, さらにその代謝であるオキソ脂肪酸, エノン脂肪酸などに由来する可能性の検証にも興味を持たれる.

さまざまな生理活性が見いだされたHYAに関しては, 機能性食品素材としての生産法開発にも取り組んでいる³⁰⁾. HYAは乳酸菌代謝を利用して植物油から作ることができ, 乳酸発酵食品にも少量含まれていることから食経験もあり, 安心かつ安全な素材である. HYAに腸管バリア保護機能, 腸炎抑制機能が認められることから, HYAを機能性食品として継続的に摂取することで腸の健康を維持できると考えられる. また将来的には潰瘍性大腸炎やクローン病などの対応困難とされている疾病の治療においても貢献できることを期待している.

HYA以外にも, 炭素数18の食事由来脂肪酸(リノール酸, α -リノレン酸, γ -リノレン酸)や炭素数20の食事由来脂肪酸(アラキドン酸やEPA)に由来する多様な水酸化脂肪酸, オキソ脂肪酸, エノン脂肪酸, 共役脂肪酸, 部分飽和脂肪酸の生産が可能となっている^{6, 12, 31, 32)}. 現在, これらの腸内細菌脂肪酸代謝物の生理機能や, 生体にける腸内細菌脂肪酸代謝物の分布や濃度と内因的な生理機能の発現についての解析を行っているところである. これらの解析を通して, 食事脂質の脂肪酸組成と腸内細菌の脂肪酸代謝活性の相互作用が健康維持において持つ役割が明らかになってくることを期待している.

謝辞

代謝解析では, 著者研究室の安藤晃規助教ならびに竹内道樹助教, 理化学研究所統合生命医科学研究センター・メタボローム研究チーム・有田誠チームリーダー(慶応大学薬学部・教授), 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所ワクチンマテリアルプロジェクト・國澤純プロジェクトリーダーに, 生理機能解析では, 広島大学生物圏科学研究科・田辺創一教授(現・日清食品ホールディングス株式会社)ならびに鈴木卓弥教授, 東京農工大学・木村郁夫准教授ならびに宮本潤基特任助教, 京都大学農学研究科・菅原達也教授, 河田照雄教授ならびに後藤剛准教授, 新潟大学医歯学総合研究科・山崎和久教授, 北里大学北里生命科学研究所・松井英則講師, 日東薬品工業研究開発本部・米島靖記博士にご尽力いただきましたことに御礼申し上げます. 本研究の一部は, 生研センターイノベーション創出基礎的研究推進事業・農林水産業食品産業科学技術研究推

進事業、新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）、
先端的低炭素化技術開発（ALCA）の支援を受けました。

文 献

- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., & Mosley, E.E. (2008) Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.*, **86**, 397–412.
- Pariza, M.W. (2004) Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.*, **79**(Suppl), 1132S–1136S.
- Adamczak, M., Bornscheuer, U.T., & Bednarski, W. (2008) Properties and biotechnological methods to produce lipids containing conjugated linoleic acid. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 491–504.
- Ogawa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y., & Shimizu, S. (2001) Conjugated linoleic acid (CLA) accumulation via 10-hydroxy-12-octadecanoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 1246–1252.
- Kishino, S., Ogawa, J., Ando, A., Iwashita, T., Fujita, T., Kawashima, H., & Shimizu, S. (2003) Structural analysis of conjugated linoleic acid produced by *Lactobacillus plantarum*, and factors affecting isomer production. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 179–182.
- Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K., & Shimizu, S. (2005) Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, **100**, 355–364.
- Kishino, S., Ogawa, J., Yokozeki, K., & Shimizu, S. (2009) Metabolic diversity in biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids by lactic acid bacteria involving conjugated fatty acid production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **84**, 87–97.
- Kishino, S., Ogawa, J., Yokozeki, K., & Shimizu, S. (2011) Linoleic acid isomerase in *Lactobacillus plantarum* AKU1009a proved to be a multi-component enzyme system requiring oxidation cofactors. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 318–322.
- Kishino, S., Park, S.B., Takeuchi, M., Yokozeki, K., Shimizu, S., & Ogawa, J. (2011) Novel multi-component enzyme machinery in lactic acid bacteria catalyzing C=C double bond migration useful for conjugated fatty acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **416**, 188–193.
- Kishino, S., Takeuchi, M., Park, S.B., Hirata, A., Kitamura, N., Kunisawa, J., Kiyono, H., Iwamoto, R., Isobe, Y., Arita, M., et al. (2013) Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 17808–17813.
- Takeuchi, M., Kishino, S., Tanabe, K., Hirata, A., Park, S.B., Shimizu, S., & Ogawa, J. (2013) Hydroxy fatty acid production by *Pediococcus* sp. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **115**, 386–393.
- Sakurama, H., Kishino, S., Mihara, K., Ando, A., Kita, K., Takahashi, S., Shimizu, S., & Ogawa, J. (2014) Biohydrogenation of C20 polyunsaturated fatty acids by anaerobic bacteria. *J. Lipid Res.*, **55**, 1855–1863.
- Takeuchi, M., Kishino, S., Hirata, A., Park, S.B., Kitamura, N., & Ogawa, J. (2015) Characterization of the linoleic acid Δ^9 hydratase catalyzing the first step of polyunsaturated fatty acid saturation metabolism in *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a. *J. Biosci. Bioeng.*, **119**, 636–641.
- Hirata, A., Kishino, S., Park, S.B., Takeuchi, M., Kitamura, N., & Ogawa, J. (2015) A novel unsaturated fatty acid hydratase toward C16 to C22 fatty acids from *Lactobacillus acidophilus*. *J. Lipid Res.*, **56**, 1340–1350.
- Takeuchi, M., Kishino, S., Park, S.B., Kitamura, N., & Ogawa, J. (2015) Characterization of hydroxy fatty acid dehydrogenase involved in polyunsaturated fatty acid saturation metabolism in *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a. *J. Mol. Catal., B Enzym.*, **117**, 7–12.
- Feng, H., Miyakawa, T., Kitamura, N., Takeuchi, M., Park, S.B., Kishino, S., Ogawa, J., & Tanokura, M. (2015) Structure and reaction mechanism of a novel enone reductase. *FEBS J.*, **282**, 1526–1537.
- Nanthirudjanar, T., Furumoto, H., Zheng, J., Kim, Y.L., Goto, T., Takahashi, N., Kawada, T., Park, S.B., Hirata, A., Kitamura, N., et al. (2015) Gut microbial fatty acid metabolites reduce triacylglycerol levels in hepatocytes. *Lipids*, **50**, 1093–1102.
- Furumoto, H., Nanthirudjanar, T., Kume, T., Izumi, Y., Park, S.B., Kitamura, N., Kishino, S., Ogawa, J., Hirata, T., & Sugawara, T. (2016) 10-Oxo-trans-11-octadecenoic acid generated from linoleic acid by a gut lactic acid bacterium *Lactobacillus plantarum* is cytoprotective against oxidative stress. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **296**, 1–9.
- Matsui, H., Takahashi, T., Murayama, S.Y., Kawaguchi, M., Matsuo, K., & Nakamura, M. (2017) Protective efficacy of a hydroxy fatty acid against gastric *Helicobacter* infections. *Helicobacter*, **22**, e12430.
- Goto, T., Kim, Y.I., Furuzono, T., Takahashi, N., Yamakuni, K., Yang, H.E., Li, Y., Ohue, R., Nomura, W., Sugawara, T., et al. (2015) 10-oxo-12(Z)-octadecenoic acid, a linoleic acid metabolite produced by gut lactic acid bacteria, potentially activates PPAR γ and stimulates adipogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **459**, 597–603.
- Kim, M., Furuzono, T., Yamakuni, K., Li, Y., Kim, Y.I., Takahashi, H., Ohue-Kitano, R., Jheng, H.F., Takahashi, N., Kano, Y., et al. (2017) 10-oxo-12(Z)-octadecenoic acid, a linoleic acid metabolite produced by gut lactic acid bacteria, enhances energy metabolism by activation of TRPV1. *FASEB J.*, **31**, 5036–5048.
- Miyamoto, J., Mizukure, T., Park, S.B., Kishino, S., Kimura, I., Hirano, K., Bergamo, P., Rossi, M., Suzuki, T., Arita, M., et al. (2015) A gut microbial metabolite of linoleic acid, 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, ameliorates intestinal epithelial barrier impairment partially via GPR40/MEK-ERK pathway. *J. Biol. Chem.*, **290**, 2902–2918.
- Yamada, M., Takahashi, N., Matsuda, Y., Sato, K., Yokoji, M., Sulijaya, B., Maekawa, T., Ushiki, T., Mikami, Y., Hayatsu, M., et al. (2018) A bacterial metabolite ameliorates periodontal pathogen-induced gingival epithelial barrier disruption via GPR40 signaling. *Sci. Rep.*, **8**, 9008.
- Bergamo, P., Luongo, D., Miyamoto, J., Cocca, E., Kishino, S., Ogawa, J., Tanabe, S., & Rossi, M. (2014) Immunomodulatory activity of a gut microbial metabolite of dietary linoleic acid, 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, associated with improved antioxidant/detoxifying defences. *J. Funct. Foods*, **11**, 192–202.
- Kaikiri, H., Miyamoto, J., Kawakami, T., Park, S.B., Kitamura, N., Kishino, S., Yonejima, Y., Hisa, K., Watanabe, J., Ogita, T., et al. (2017) Supplemental feeding of a gut microbial metabolite of linoleic acid, 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, alleviates spontaneous atopic dermatitis and modulates intestinal microbiota in NC/Nga mice. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **68**, 941–951.
- Yang, H.E., Li, Y., Nishimura, A., Jheng, H.F., Yuliana, A., Kitano-Ohue, R., Nomura, W., Takahashi, N., Kim, C.S., Yu, R., et al. (2017) Synthesized enone fatty acids resembling metabolites from gut microbiota suppress macrophage-mediated inflammation in adipocytes. *Mol. Nutr. Food Res.*, **61**, 1700064.

- 27) Ohue-Kitano, R., Yasuoka, Y., Goto, T., Kitamura, N., Park, S.B., Kishino, S., Kimura, I., Kasubuchi, M., Takahashi, H., Li, Y.J., et al. (2018) α -Linolenic acid-derived metabolites from gut lactic acid bacteria induce differentiation of anti-inflammatory M2 macrophages through G protein-coupled receptor 40. *FASEB J.*, **32**, 304–318.
- 28) Yonejima, Y., Urushihara, M., Kitao, K., & Furihata, K. (2017) Effects of the intake of HYA-containing food on postprandial hyperglycemia: a randomized, placebo-controlled, double blind crossover trial. *Prog. Med.*, **37**, 1105–1111.
- 29) Yore, M.M., Syed, I., Moraes-Vieira, P.M., Zhang, T., Herman, M.A., Homan, E.A., Patel, R.T., Lee, J., Chen, S., Peroni, O.D., et al. (2014) Discovery of a class of endogenous mammalian lipids with anti-diabetic and anti-inflammatory effects. *Cell*, **159**, 318–332.
- 30) Takeuchi, M., Kishino, S., Park, S.B., Hirata, A., Kitamura, N., Saika, A., & Ogawa, J. (2016) Efficient enzymatic production of hydroxy fatty acids by linoleic acid $\Delta 9$ hydratase from *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a. *J. Appl. Microbiol.*, **120**, 1282–1288.
- 31) Kishino, S., Ogawa, J., Yokozeki, K., & Shimizu, S. (2009) Microbial production of conjugated fatty acids. *Lipid Technol.*, **21**, 177–181.
- 32) Ogawa, J., Sakuradani, E., Kishino, S., Ando, A., Yokozeki, K., & Shimizu, S. (2012) Polyunsaturated fatty acid production and transformation by *Mortierella alpina* and anaerobic bacteria. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **114**, 1107–1113.

著者寸描

●小川 順（おがわ じゅん）



京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻教授。博士（農学）。

■略歴 1967年滋賀県生まれ徳島県育ち。90年京都大学農学部農芸化学科卒業。95年同大学院農学研究科農芸化学専攻博士後期課程修了。2006～07年フランス国立農業研究所客員研究員。09年より現職。

■研究テーマと抱負 微生物に多様な機能を探索し、それを社会ために役立てる研究をしたい。

■ウェブサイト <http://www.hakko.kais.kyoto-u.ac.jp/>

■趣味 クラシック音楽（オーボエ演奏・指揮）、酒遊食楽。