

食餌性セラブロシドの生理的作用

Physiological effects of dietary cerebroside

島田 真美¹⁾、清水 佳隆^{1,2,3)}

¹⁾東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻、²⁾東海大学工学部生命化学科、³⁾東海大学先進生命科学研究所

Mami Shimada¹⁾, Yoshitaka Shimizu^{1,2,3)}

¹⁾Department of Applied Science, Graduate School of Engineering, Tokai University

²⁾Department of Applied Biochemistry, School of Engineering, Tokai University

³⁾Institute of Advanced Biosciences, Tokai University

[要旨]

セラブロシドは、細胞膜の構成成分の一つとして生物界に広く存在し、細胞の分化や増殖あるいは接着やアポトーシスなど、様々な生命現象に深く関わっている。近年、セラブロシドは機能性食品用原料として注目されており、種々の天然物から抽出されたセラブロシドが、主に皮膚保湿効果や美肌効果などを期待して美容目的で食品に添加されている。この総説では、これまでに知られている食餌性セラブロシドの生理的作用を概説すると共に、セラブロシドの産業利用を拡大するための今後の課題と展望を述べる。

[Abstract]

Cerebroside, ubiquitous in the biological world, are one of the components of the cell membrane and are extensively involved in biological processes such as cell differentiation and apoptosis. In recent years, there has been a focus on the use of cerebroside as a raw material for functional foods. Cerebroside extracts from various natural sources have been added to food products mainly owing to their moisturizing and skin beautifying properties. In this review, we present the current knowledge of physiological effects of dietary cerebroside and outline future prospects and areas for expansion of their utilization in industry.

[Key Words]

cerebroside, glucosylceramide, functional food material

1. セラブロシド

セラミドは細胞膜や組織を構成する成分の一つとして生物界に普遍的に存在しており、長鎖アミノアルコールであるスフィンゴイド塩基のアミノ基に脂肪酸が結合した構造を持つ。このセラミドの1-ヒドロキシ残基に単糖が結合した化合物をセラブロシドと呼ぶ(図1)。さらに、結合した糖がグルコースかガラクトースによってグルコシルセラミド(GlcCer)あるいはガラクトシルセラミド(GalCer)と呼び分けられる。GlcCerは全ての組織、細胞に存在しており、400種類以上の糖脂質の共通前駆体となっている。

セラブロシドはあらゆる細胞に存在しているが、生物種ごとまたは同じ種でも生息環境によりセラミド部分の炭素数や二重結合の数など構造が異なり多くの分子種が

存在する。この構造の違いによって生体への生理作用が異なり、その多様な作用が種々の分野で研究、応用されている。その一例が1995年にキリンビール株式会社が開発したKRN7000である。KRN7000は特異な α -GlcCer構造を有し、ナチュラルキラーT細胞を活性化して、いわゆるTh1型とTh2型両方のサイトカイン産生を誘導することが知られている。これまでに様々な構造の α -GlcCerが合成され、それらの免疫誘導能と構造活性相関は詳細に検討されている¹⁾。

本総説では主にGlcCerの食品利用について概説する。

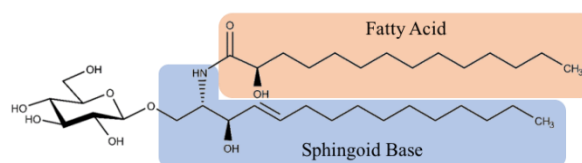


図1、セラブロシドの構造例

2. 食餌性セラブロシドの作用

セラブロシドには様々な生理作用が報告されているが、一般食品や飲料など食品に用いられる場合のほとんどが皮膚保湿効果や美肌効果を期待して添加されている。1980年代から各方面の研究者から角層のバリア形成にセラミドが必須であることが報告されるようになり、日本では2000年頃から輸入、販売されるようになったのがセラミド素材の内服のはじまりであるとされている²⁾。

Duan らによれば、トウモロコシ由来の GlcCer をアトピー性皮膚炎モデルマウスに経口投与したところ角質層水分量の増加と経表皮水分蒸散量が低下し、肌のバリア機能の向上を示したとの報告がある³⁾。一方、Nilsson らの報告によれば、セラブロシドを経口的に摂取した場合、消化管内で酵素による分解を受けて糖とスフィンゴイド塩基、脂肪酸に分解される。これらはわずかに小腸上皮細胞に取り込まれるが、大半は吸収されず消化管下部に排出されることが明らかとされている^{4, 5)}。そのため GlcCer が直接表皮に供給されるのではなく、酵素分解を受けた後のスフィンゴイド塩基が表皮角質層の *de novo* 合成経路などを活性化し、セラミド合成を促進することで皮膚のバリア機能を向上しているのではないかと考えられている⁶⁾。

Ono らの報告によれば、トウモロコシ由来 GlcCer をアトピー性皮膚炎モデルマウスに経口投与したところ、脱毛および湿疹が対照群に比べて軽度で、かつ血漿 IgE レベルが有意に低下したとされる⁷⁾。また、タモギタケ由来 GlcCer を、アトピー性皮膚炎患者の皮膚に塗布したところ角質層水分量の増加と経表皮水分蒸散量が低下する報告がされている⁸⁾。

トウモロコシ由来 GlcCer は抗炎症作用に関しても報告されている。炎症性腸疾患に類似した症状を発症するデキストラン硫酸ナトリウム塩 (DSS) 処理マウスに GlcCer を投与したところ、DSS 投与による体重の減少を抑制し、腸粘膜によるサイトカイン産生を有意に低下させ DSS 誘発性炎症を抑制した⁹⁾。

ナマコおよびヒトデ由来 GlcCer に関して、類似の抗腫瘍作用が報告されており、癌モデルマウスの胃内に投与したところ腫瘍重量が減少した。また *in vitro* ではあるが、癌細胞のアポトーシスを誘導した。これらのことから、GlcCer は潜在的な抗腫瘍活性を有することが示唆されている¹⁰⁾。また両方の GlcCer で PC12 細胞を酸化ダメージから保護する作用¹¹⁾、ヒトデ由来 GlcCer は Caco-2 細胞

に対してアポトーシスを誘導する¹²⁾ことも明らかとされている。そのほかにもメタボリックシンドロームを防ぐことが期待されるコレステロール吸収阻害¹³⁾及び血中コレステロール低下作用^{14,15)}などが報告されている。この様に GlcCer は経口投与により様々な生理作用を示すことから、その作用機序が複雑であることが予想されるが、今後さらに研究が進めば食品だけでなく医薬品領域への展開も期待できる。

3. セラブロシドの製造

1) 原料

セラブロシドは当初、脳神経細胞から発見されたことにより主として動物組織、特に牛脳抽出物由来のガラクトシルセラミドが天然セラミドとして用いられてきた。しかし、狂牛病の発生以来その使用は感染症等が危惧されるため、食品原料としては動物由来のセラブロシドはほとんど使用されなくなった¹⁶⁾。

酵母に効率良くセラブロシドを産生させる方法も検討されているが¹⁷⁻¹⁹⁾、現在、市場に流通している食品用途のセラミド素材は小麦、大豆、コンニャク、トウモロコシ、タモギタケなどの植物由来が大部分である。動物由来の食品用セラミドとしては2006年頃からミルクから精製されたセラミド素材が市場に出始めた。また、化粧品用途に馬脊椎由来のセラブロシドもわずかではあるが市場に流通している。しかし、これらいずれのセラブロシド原料も原原料のセラブロシド含有率が低いため、製品化後もセラブロシド含量は2~20%と低純度のものが多く²⁰⁾、高価な添加物であるため、最終製品への添加量は極僅かにならざるを得ない。また、天然に由来する低純度のセラブロシドには素材特有の「臭い」が存在する。このことも最終製品への添加量が上げられない大きな要因となっており、セラブロシドの産業利用を拡大するためには、安価に高純度なセラブロシドを精製する製造方法が求められている。

2) 製造方法

食品用途以外の製造では溶媒にクロロホルムやメタノールを使用し精製することが多く²¹⁻²⁴⁾、シリカゲルを担体としたカラムクロマトグラフィーが一般的に用いられている。

食品用途の製造では使用する溶媒は限定され、クロロホルムやメタノールは使用できない。通常、まず植物および動物組織など原料の乾燥物からエタノールで総脂質

を抽出する。次に抽出した脂質溶液に対してヘキサン/アセトン/水などの混合溶媒による二層分配を行い、水溶性物質を除去する²⁵⁾。そして共存しているグリセロ脂質などをアルカリ加水分解し、その後冷アセトン沈殿でセレブロシドを精製する工程などが提案されている²⁶⁻²⁸⁾。しかしこの精製方法では複数回の溶媒除去や冷却、吸引の過が必要となる。さらに高純度化するには溶出溶媒にヘキサンやアセトン、エタノールなどを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行う場合が多い。またシリカゲル以外にもイオン交換体などの合成樹脂を担体とする方法も提案されている。

しかしながら、高純度精製に利用されているシリカゲルは水系や酸・アルカリによる洗浄が不可能であり、実製造では再利用困難である。また再利用が容易とされる合成樹脂も母体がアクリル系やスチレン系のは、ヘキサンやアセトンなどの有機溶媒への耐性が低い。我々はこれらの問題を解決するために、新規のセレブロシド高純度大量製造方法を確立し特許を出願した。この方法は原原料からの抽出から高純度化まで濃縮や冷却工程を必要とせず、ヘキサンやアセトンに耐性の合成樹脂を用いたカラムクロマトグラフィーを含む製造方法である。

4. 展望

前述のように、セレブロシドをはじめとしたセラミド類の経口摂取が種々の生理作用を示すことが明らかとされ、セラミド類の機能性食品等への産業応用が注目されつつある。一方、消化管でそのまま吸収されることが無く、酵素消化された後にその一部だけが吸収され、これまでに述べたような各種の生理作用を示す本体とされているスフィンゴイド塩基の大部分は下部消化管に排出されることも知られている。我々は食事に含まれるセラミド類を日常的に摂取している。抽出精製された少量のセラミド類の経口摂取が各種の生理作用を示すことは消化管粘膜上皮から吸収された少量のスフィンゴイド塩基の作用だけでなく、これまでに知られていない取り込み機構や作用メカニズムが存在することが想定される。そのため、我々は高純度に精製されたセレブロシドからリポソームを調製し、セレブロシドリポソームの「脂質粒子」としての消化管内動態と生理作用に着目した研究をすすめている。これまでに、セレブロシドリポソームはマウスに経口投与すると、リポソームの粒子性の取込みが確認されると共に、興味ある生理反応を示す結果が得られつつある。これらの詳細に関しては機会を改めて報

告する。

5. 引用文献

- [1] Tashiro T, et al., *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, Vol.22(128), 280-295 (2010)
- [2] Miyashita R, Ph.D.thesis, Iwate University (2012)
- [3] Duan J, et al., *Experimental Dermatology*, Vol.21, 448-452 (2012)
- [4] Nilsson A, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol.187(1), 113-121 (1969)
- [5] Nilsson A, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol.164(3), 575-584 (1968)
- [6] 菅原達也、日本栄養・食料学会誌、第66巻(4)、177-183 (2013)
- [7] Ono J, et al., *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol.112, 708-711 (2004)
- [8] Yamagishi K, et al., *Journal of New Remedies & Clinics*, Vol.60, No.3, 208-216(2011)
- [9] Arai K, et al., *Journal of Oleo Science*, Vol.64(7) 737-742 (2015)
- [10] Du Lei, et al., *Journal of Oleo Science*, Vol.61(6), 321-330 (2012)
- [11] Feng-Juan Wu, et al., *Journal of Oleo Science*, Vol.62 (9), 717-727 (2013)
- [12] Shah A K, et al., *Journal of Oleo Science*, Vol.57 (9), 477-484(2008)
- [13] Noh S, et al., *Journal of Nutrition*, Vol.134(10), 2611-2616 (2004)
- [14] 金子俊之ら、特許第 3157531 号
- [15] Yunoki K, et al., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.58(11), 7030-7035 (2010)
- [16] Sono R, et al., *Japan Oleo Chemists' Society*, Vol.10(3), 97-101 (2010)
- [17] 田村雅彦ら、特許第 4246056 号
- [18] 佐藤寿哉ら、特許第 5967754 号
- [19] Kaufman B, et al., *The Journal of Biologic & Chemistry*, Vol.246(13), 4266-4271 (1971)
- [20] Miyashita R, et al., *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, Vol.59(1), 34-39 (2012)
- [21] Samuelsson B, et al., *Journal of Lipid Research*, Vol.10(1), 47-55 (1969)
- [22] Mikami D, et al., *Journal of Oleo Science*, Vol.65(8), 671-680(2016)

- [23] Kashima M, et al, *Journal of Oleo Science*, Vol.51(5), 347-354 (2002)
- [24] Norman S R, *Journal of Lipid Research*, Vol.31, 2291-2293 (1990)
- [25] 宮澤陽夫ら、特開 2006-232699
- [26] 柚木恵太、特許第 5013348 号
- [27] 宮西健次ら、特許第 3992425 号
- [28] 鹿島稔ら、特開 2002-30093

6. 業績

【学会発表】

- 1) 風巻貴士、蟹江善美、蟹江治、武藤昌図、小島直也、清水佳隆：セレブロシドリポソームの消化管吸収と体内動態に関する検討、第 36 回日本糖質学会年会（旭川）2017 年 7 月.
- 2) 島田真美、山口亮介、清水佳隆：ヒトデ由来セレブロシドの実用的な調製方法、第 36 回日本糖質学会年会（旭川）2017 年 7 月.
- 3) 山口亮介、蟹江善美、蟹江治、小田慶喜、黒田泰弘、清水佳隆：キヒトデ (*Asterias amurensis*) 由来セレブロシドの構造に関する研究、第 36 回日本糖質学会年会（旭川）2017 年 7 月.
- 4) 山崎素未、蟹江善美、蟹江治、笹川昇、清水佳隆：セレブロシドリポソームが *C. elegans* の寿命に与える影響、第 36 回日本糖質学会年会（旭川）2017 年 7 月.
- 5) 風巻貴士、蟹江善美、蟹江治、武藤昌図、小島直也、清水佳隆：経口投与されたセレブロシドリポソームの動態解析、第 4 回 FCCA シンポジウム、2017 年 10 月.
- 6) 島田真美、山口亮介、清水佳隆：セレブロシドの高純度大量精製とセレブロシドリポソームの剤型に関する検討、第 4 回 FCCA シンポジウム、2017 年 10 月.
- 7) 山口亮介、蟹江善美、蟹江治、小田慶喜、黒田泰弘、清水佳隆：キヒトデ (*Asterias amurensis*) 由来セレブロシドの構造解析、第 4 回 FCCA シンポジウム、2017 年 10 月.
- 8) 山崎素未、蟹江善美、蟹江治、笹川昇、清水佳隆：ヒトデ由来セレブロシドが *C. elegans* の寿命に与える影響、第 4 回 FCCA シンポジウム、2017 年 10 月.

【特許】

- 1) 清水佳隆、島田真美、山口亮介：セレブロシドの製造方法及びセレブロシド精製キット。特願 2017-106924（出願日 2017 年 5 月 30 日）

7. 謝辞

本総説中に記載した業績の一部は国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) の研究成果展開事業「マッチングプランナープログラム」および学校法人東海大学総合研究機構「研究奨励補助計画」の支援によって行われたものであり、ここに記して感謝いたします。