

# 抗胃腸障害機能の強化を目的としたキャベツの効果的な調理および食べ合わせに関する研究

福山大学生命工学部 生命栄養科学科

瓜倉 真衣

生野菜や果物には種々の酵素が含まれており、調理の際や消化管内で他の食品成分と反応し、食する前後で成分変化が生じる。例えばアミラーゼやプロテアーゼが同時に食べ合わせた食品を分解し消化を助けることなどはよく知られているが、その詳細が分かっていないものもある。本研究ではアブラナ科野菜に強く存在するホスホリパーゼ (PLD) 活性に着目し、生理活性脂質リゾホスファチジン酸 (LPA) との関連に焦点を当てた検討を行った。LPA はグリセロールの1位あるいは2位に脂肪酸が、3位にはリン酸が結合した極めて単純な構造のリン脂質であり、最近では粘膜上皮の管腔側に発現する特異的受容体を介し、消化管粘膜の新生を促すこと<sup>1)</sup>や、細菌感染誘導性の下痢を止めることが報告されている<sup>2)</sup>。申請者の研究室では、アブラナ科野菜のキャベツやダイコンを生そのまますり潰すと、LPA および PA が多く生じることから<sup>3)</sup>、これらの野菜が古くから食べる胃腸薬として親しまれているのは、抗潰瘍作用を持つメチルメチオニン (ビタミンU) や消化酵素ジアスターゼに加えてLPAの関与があると考えている。ただ、野菜の単独摂取からでは抗潰瘍機能に必要なLPAは分量まかなえない可能性があるため、効率よくLPAを胃腸にもたす方法を模索している。

PLDはリン脂質に作用し、ホスファチジン酸 (PA) を生じる加水分解酵素である。PAはリン脂質合成の中間体として重要な化合物であるとともに生理活性脂質LPAの前駆体でもあるため、摂食時のPAの量を知ることは栄養学的にも重要な意義を持つ。本研究ではPLD活性の高いキャベツの調理操作に加え、ホスファチジルコリン (PC) 等のリン脂質を豊富に含む卵黄、大豆などの食品との組み合わせについて調べた。さらに、PLDはアルコール存在下では加水分解に加えアルコール転移反応が起こることも知られている。それゆえ、生キャベツとエタノールを同時摂取した場合はホスファチジルエタノール (PEt) が生成され、PA生成量にも影響を及ぼす可能性が考えられる。これら食品の組み合わせについて検討することで、抗潰瘍機能を有するLPAを効率よく産生する方法を検討した。なお、本研究は徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部との共同研究である。

## 実験方法

### 1. 食品素材からの PLD アッセイ

#### 1-(1) 食品素材からの PLD 酵素溶液の調製

種々の食品素材 5 g をみじん切りにし、蒸留水 15 ml を加えウルトラディスペーサーでホモジナイズした。これを遠心分離 (3000 rpm, 5 分間, 4℃) した上清を回収し、酵素溶液とした。

#### 1-(2) PLD アッセイ

167 nmol 相当量の卵黄 PC に 0.28 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.8) 500  $\mu$ l, 0.1 M 塩化カルシウム溶液 100  $\mu$ l, 1-(1) で調製した酵素溶液 400  $\mu$ l を加えた。また、基質 PC を加えないものをブランクとした。コンセントレーターにて 30℃ で 60 分間反応させた後、この反応混液を 5 分間煮沸することで反応を停止させた。冷却後、酸性 Bligh-Dyer 法<sup>4)</sup>により抽出したリン脂質を薄層クロマトグラフィー (TLC) プレート上にアプライし、1次元として塩基性溶媒 (クロロホルム : メタノール : 28% アンモニア水 = 60 : 35 : 8, v/v), 2次元として酸性溶媒 (クロロホルム : アセトン : メタノール : 水 : 酢酸 = 50 : 20 : 10 : 5 : 13, v/v) を用いた2次元 TLC により分離した。

### 2. キャベツからの PLD アッセイ

#### 2-(1) キャベツ圧搾液およびキャベツ PLD 酵素溶液の調製

キャベツ約 80 g を低温室でみじん切りし、乳鉢ですり潰した。これをガーゼで包んで手で搾ったもの (約 4 ml) をキャベツ圧搾液とした。

また、キャベツの葉 150 g に 150 ml の水を加え、ワーキングホモジナイザーでホモジナイズした。これをガーゼでろ過したものを遠心分離 (10700 rpm, 30 分間, 4℃) して上清を得た。この上清を熱処理 (55℃, 5 分間) した後、急冷 (0℃) し、遠心分離 (3000 rpm, 5 分間, 4℃) を行い、上清を得た。この上清にあらかじめ -20℃ で冷却しておいたアセトンを 2 倍量加え、-20℃ で 10 分間静置した。その後、遠心分離 (3000 rpm, 5 分間, 4℃) により得られた沈渣を低温室で一晩乾燥させた。乾燥後、沈渣に水を加え、ポッター型ホモジナイザーにてホモジナイズした後、遠心分離 (10700 rpm, 30 分間, 4℃) を行い、得られた上清をキャベツ PLD 酵素溶液とした。

## 2-(2) 卵黄 PC および大豆 PC より生じる PA

3225 nmol 相当量の基質 (大豆 PC, 卵黄 PC) に 0.28 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.8) 500  $\mu$ l, 0.1 M 塩化カルシウム溶液 100  $\mu$ l, 2-(1) で調製したキャベツ圧搾液 100  $\mu$ l を加えた。コンセントレーターにて 30°C で 15 分間反応させた後、この反応混液を 10 分間煮沸することで反応を停止させた。冷却後、酸性 Bligh-Dyer 法により抽出したリン脂質を TLC プレート上にアプライし、酸性の溶媒 (クロロホルム: アセトン: メタノール: 水: 酢酸 = 50:20:10:5:13, v/v) を用いて展開した。各リン脂質画分を TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出した。リン脂質の定量には Bartlett 法<sup>5)</sup> を用いた。

## 2-(3) PA, PC の脂肪酸分子内分布

2-(2) の PLD 反応後、TLC にて分離、抽出した PA および PC 322 nmol 相当量に、0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) を 200  $\mu$ l 加え、超音波処理を行った。酵素溶液 300  $\mu$ l (PLA2 原液 25  $\mu$ l, 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 275  $\mu$ l, 0.02 M 酢酸カルシウム溶液 25  $\mu$ l) とジエチルエーテル 1 ml を加え、37°C, 3 時間以上コンセントレーターにて反応させた後、ジエチルエーテルを窒素気流下で除去した。酸性 Bligh-Dyer 法により抽出したリン脂質を TLC プレート上にアプライし、塩基性の溶媒 (クロロホルム: メタノール: 28% アンモニア水 = 60:35:8, v/v) を用いて展開した。LPA あるいは LPC (グリセロールの 1 位に結合した脂肪酸) および、遊離脂肪酸 (グリセロールの 2 位に結合した脂肪酸) の画分をそれぞれ TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法により抽出した脂質をガスクロマトグラフィー分析した。

## 2-(4) キャベツ PLD の熱耐性

1-(1) で作成したキャベツ圧搾液を、4°C, 30°C, 50°C, 60°C, 70°C, 90°C, 100°C の各温度で 30 分間置いた。322 nmol 相当量の大豆 PC に 0.28 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.8) 500  $\mu$ l, 0.1 M 塩化カルシウム溶液 100  $\mu$ l, およびそれぞれのキャベツ圧搾液 100  $\mu$ l を加えた。また、基質 PC を加えないものをブランクとした。コンセントレーターにて 30°C で 15 分間反応させた後、この反応混液を 10 分間煮沸することで反応を停止させた。冷却後、酸性 Bligh-Dyer 法により抽出したリン脂質を、酸性の溶媒を用いて TLC で展開した。各リン脂質画分を TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出した。リン脂質の定量には Bartlett 法を用いた。

## 2-(5) キャベツ PLD のトランスホスファチゼーション

645 nmol 相当量の大豆 PC に 0.28 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.8) 100  $\mu$ l, 0.1 M 塩化カルシウム溶液 20  $\mu$ l, キャベツ PLD 酵素溶液 (アセトン沈殿) 20  $\mu$ l を加えた。コンセントレーターにて 30°C で 1 時間反応させた後、この反応混液を 10 分間煮沸することで反応を停止させた。冷却

後、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出し、2 次元 TLC にて展開した。各リン脂質画分を TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出した。リン脂質の定量には Bartlett 法を用いた。

## 3. 調理操作別キャベツからの脂質分析

キャベツ 3 g を千切り状 (スライサー使用)、みじん切り状、ペースト状に加工し、25°C で 0 ~ 60 分間静置した。加熱により PLD を失活させた後、クロロホルム、メタノールを加え、ウルトラディスペーサーでホモジナイズした。さらにクロロホルム、蒸留水を加えて 2 層系とし、pH 1 になるように 6 N 塩酸を加え、酸性 Bligh-Dyer 法にて脂質を抽出した。その脂質のうち、リン量で 322 nmol 相当を 2 次元 TLC にて分離した。各リン脂質画分を TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出した。リン脂質の定量には Bartlett 法を用いた。

## 4. キャベツとマヨネーズ及びドレッシングの組み合わせ

スライサーにて千切り状にしたキャベツ 3 g に市販マヨネーズ [卵製 (AJINOMOTO), 大豆製 (ソイコム株式会社)] 0.5 g あるいはドレッシング [ボン酢 (ミツカン), 和風ドレッシング (キューピー), フレンチドレッシング (キューピー)] 0.5 g を和えて 25°C で 30 分間静置した。また、加熱したキャベツを千切りし、生キャベツの場合と同様にマヨネーズやドレッシングと和えた。3. と同様の方法で脂質を抽出した後、さらにマヨネーズやドレッシングに多く含まれる単純脂質を除去するため、減圧濃縮したサンプルにヘキサンとメタノールを加えて分配操作を行い、ヘキサンに溶解した画分を除去した。その抽出脂質のうち、リン量で 322 nmol 相当を 2 次元 TLC にて分離した。各リン脂質画分を TLC プレートより削り取り、酸性 Bligh-Dyer 法によりリン脂質を抽出した。リン脂質の定量には Bartlett 法を用いた。

## 5. ガスクロマトグラフィー (GC) による脂肪酸分析

サンプルを共付き試験管に分注し、窒素気流下で溶媒を除去した。5% メタノール塩酸、沸石を加え、45 分間還流した。冷却後、クロロホルム、メタノール、水を加え、遠心分離を行った。下層のクロロホルム溶液を窒素気流下で完全に除去し、ヘキサンに溶解させ一部を GC 分析した。GC 機種は島津 GC-14A を用いた。GC カラムは長さ 25 m  $\times$  膜厚 0.25  $\mu$ m の CBP ポリエチレングルコールを用い、温度は 160°C から 225°C まで 5°C /min の昇温プログラムに設定した。キャリアガスには窒素を用い、水素炎イオン化検出法で分析した。

## 6. マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOFMS) による分子種分析

PA および PC の分析の際は、窒素気流下で溶媒を除去した試料に、0.1% アンモニア含有メタノール 100  $\mu$ l を加え攪拌した。そのうち 10  $\mu$ l をエッペントルフチュー

ブに入れ, 0.1 mM Phos-tag® (PT) 5 µl と 0.1 g/ml ケイ酸/メタノール 2 µl をそれぞれ加え, よく攪拌した. これをサンプルプレート上に 0.5 µl アプライし, その上にマトリックスである 2,4,6-トリヒドロキシアセトフェノン (THAP) 10 mg をアセトニトリル 1 ml に溶解したものを 0.5 µl アプライし結晶化させた.

PEt の分析の際は, 窒素気流下で溶媒を完全に除去した試料に, クロロホルム:メタノール (2:1, v/v) を 100µl 加え溶解させた. エッペンチューブに 2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB) 10 mg をクロロホルム:メタノール (2:1, v/v) 1 ml に溶解したものを 9 µl 入れ, そこにクロロホルム:メタノール (2:1, v/v) に溶解したサンプルを 1 µl 加え, よく攪拌した. その混合液 1 µl をサンプルプレートにアプライし, 結晶化させた.

分析は Voyager DE STR (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA) により行った<sup>6)</sup>.

### 結果および考察

#### (1) 種々の食材の PLD 活性

12 種の野菜とミンチ肉について PLD 活性を測定したところ, アブラナ科野菜であるキャベツ, ダイコン, ブロccoli, コマツナに活性があり, 中でもキャベツが最も高い活性を有していた (図 1). 他の科の野菜では, 創傷治癒作用を持つといわれるよぎに比較的高い PLD 活性が見られた. 一方, 食肉中にはほとんど PLD 活性は見られなかった (図 1).

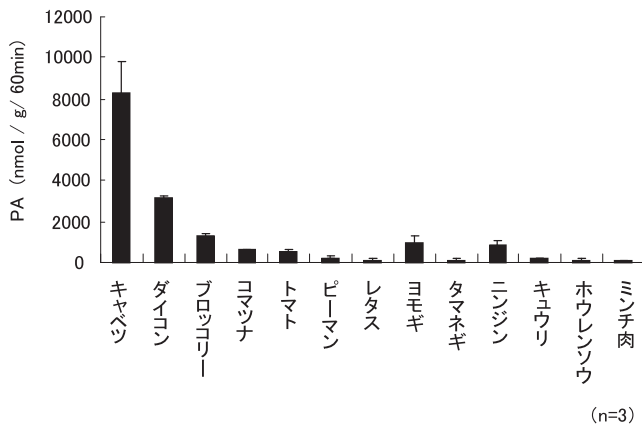


図 1 種々の食材の PLD 活性

#### (2) キャベツ PLD の熱耐性

キャベツ PLD が, 調理加熱にどの程度耐えるのかを検討するため, キャベツ圧搾液を各温度で 30 分間前処理し, PLD アッセイを行った. その結果, キャベツ PLD は 50 ~ 60°C で活性が低下し, 70°C で完全に失活していることが確認できた (図 2). したがって, キャベツ PLD の働きを期待するには非加熱で食することが望ましいと考えられる.

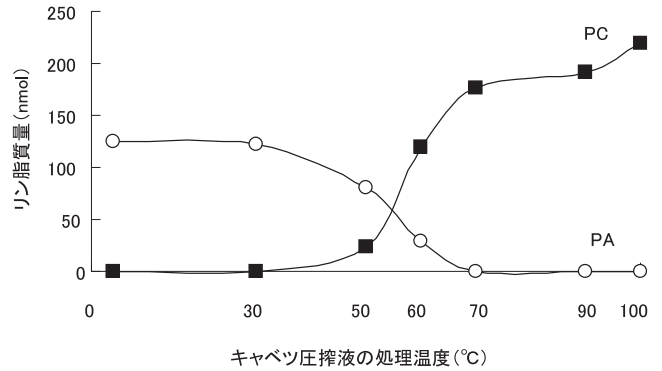


図 2 キャベツ PLD の熱耐性

#### (3) キャベツ圧搾液による卵黄および大豆 PC の PLD 反応効率

PLD はもともと PC や PE をよい基質とするが, 食材により PC や PE の脂肪酸組成は異なるため, 同じキャベツ PLD を反応させても, 産生される PA の量が違ってくる可能性も考えられる. そこで食品として摂取する機会の多い卵黄と大豆の PC を基質に用い, キャベツ PLD による PA 産生について検討した. キャベツ圧搾液を酵素源として, 卵黄および大豆 PC 3225 nmol を用いて直線性のあった 15 分間反応した. 図 3 に示すように, 卵黄 PC からの PA 生成量は 276.5 nmol であったのに対し, 大豆 PC からの PA 生成量は 1519.4 nmol であり, 卵黄 PC を基質とした場合と比較して約 5.5 倍であった. この PA 産生量の違いの原因を探るため, 基質 PC の脂肪酸組成について調べた. その結果, 卵黄 PC はパルミチン酸やステアリン酸などの飽和脂肪酸と, オレイン酸やリノール酸などの不飽和脂肪酸との割合がほぼ同じであったのに対し, 大豆 PC はリノール酸が多くを占めていた. さらに, 卵黄および大豆 PC の脂肪酸の分子内分布について詳しく調べた (図 4-A, B). その結果, 卵黄 PC は 1 位にパルミチン酸 (61.7%), ステアリン酸 (31.4%) といった飽和脂肪酸が結合し, 2 位にはオレイン酸 (48.6%), リノール酸 (39.7%) といった不飽和脂肪酸が結合した分子種が存在しているこ

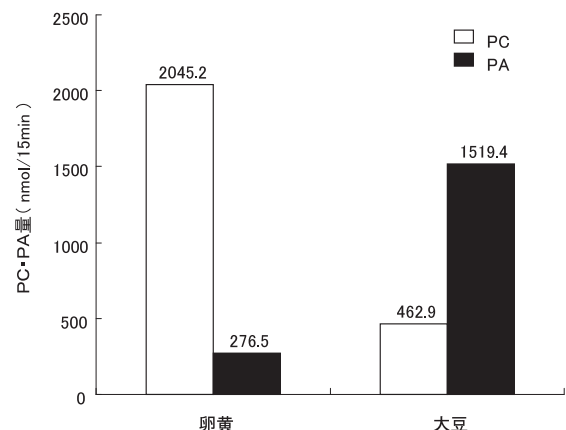


図 3 キャベツ圧搾液と PC 標品の反応により生じる PA

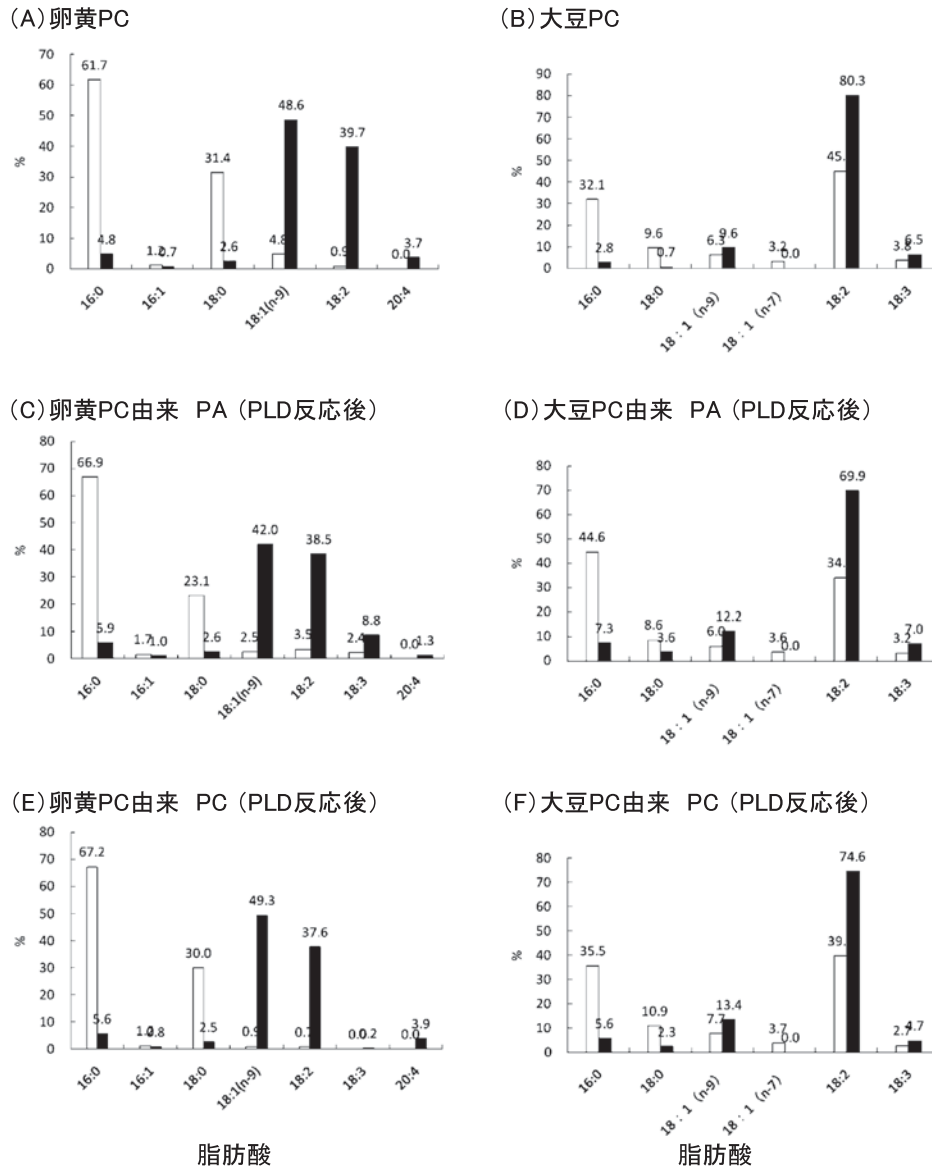


図4 卵黄および大豆 PC のキャベツ PLD 反応生成物の脂肪酸組成

とが確認できた (図 4-A)。一方、大豆 PC は 1 位にパルミチン酸 (32.1%) やステアリン酸 (9.6%) といった飽和脂肪酸以上にリノール酸 (45%) を多く含み、2 位にもリノール酸 (80.3%) を最も多く含んでいた (図 4-B)。卵黄 PC を基質として PLD 反応により生成された PA の脂肪酸の分子内分布を調べた結果、1 位にパルミチン酸を 66.9%、ステアリン酸を 23.1% 含み、2 位にオレイン酸を 42.0%、リノール酸を 38.5% 含んでおり (図 4-C)、反応前の PC 組成 (図 4-A) とほぼ同様であった。また、大豆 PC から PLD 反応により生成された PA は 1 位にパルミチン酸を 44.6%、リノール酸を 34% 含み、2 位にリノール酸を 69.9% 含んでおり (図 4-D)、反応前の PC 組成 (図 4-B) と同様の傾向であった。それに加え、両基質の PLD 反応で PA に変換されなかった残存 PC の脂肪酸組成についても、基質 PC の組成と比較して変化は見られなかった。また、MALDI-TOFMS にて大豆 PC 分子種を分

析し、18:2/18:2-PC のようなグリセロールの 1 位、2 位ともに不飽和脂肪酸を結合した分子種に加え 16:0/18:2-PC のような分子種が多く存在していることを確認した (図 5-A)。そして、キャベツ圧搾液との反応後は、これら PC が減少するとともに、Phos-tag 複合体として 18:2/18:2、16:0/18:2 の PA 分子種が検出され、PC とほぼ同じ比率で存在していた (図 5-B)。これらの結果より、PA 産生量の違いには特定の PC 分子種が反応を受けやすい為という可能性は否定され、大豆 PC が分解されやすかった理由としては、不飽和脂肪酸が多いことで、反応液中のリポソームの形態に影響した可能性が考えられる。

グリセロールの 1 位に不飽和脂肪酸の結合した PA が消化管内に存在する PLA<sub>2</sub> で分解される<sup>7)</sup> と、不飽和型の LPA が生成する。よって大豆 PC を生キャベツと食すると不飽和脂肪酸が結合した LPA 分子種がかなりの比率で生成されることになる。一方、卵黄との組み合わせでは飽

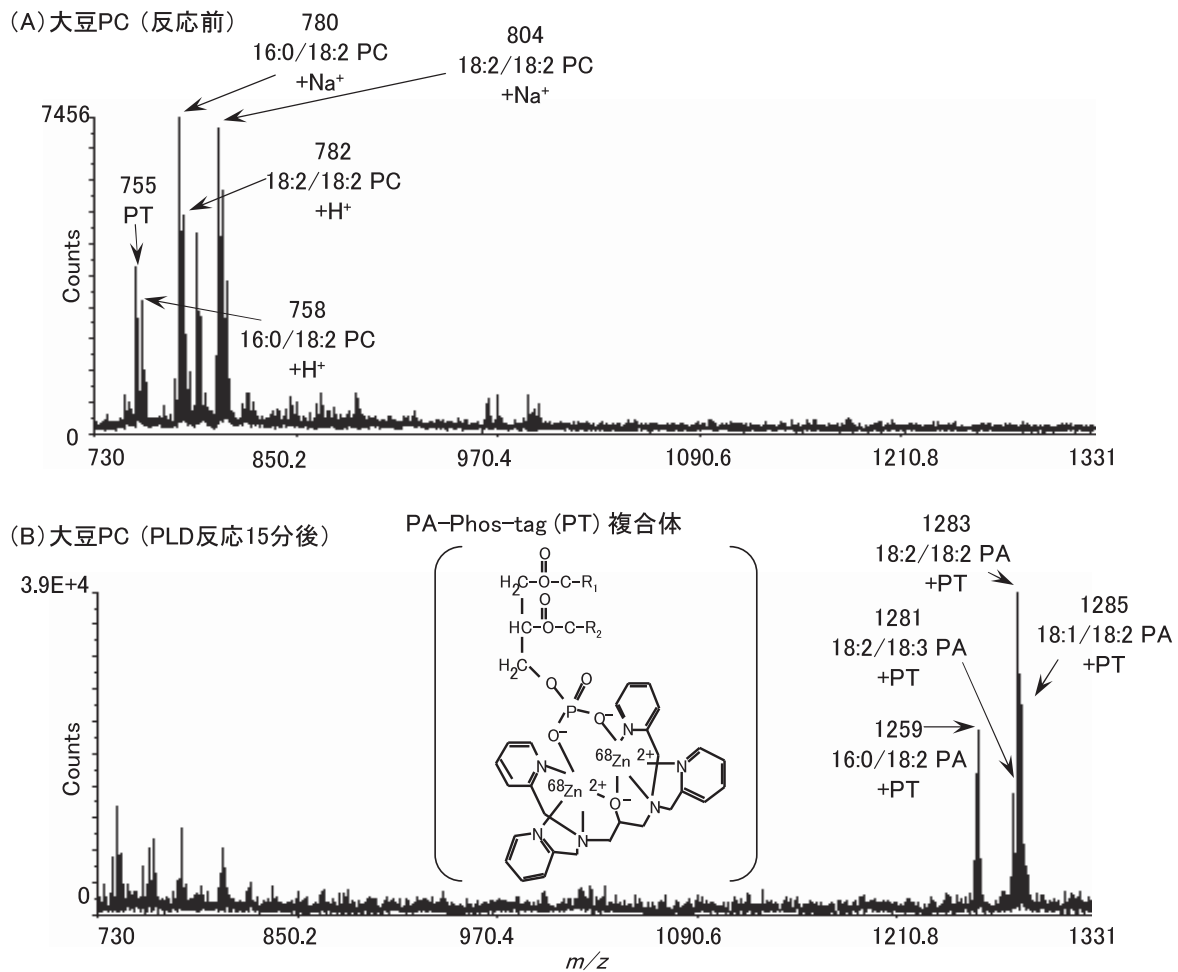


図5 大豆 PC の PLD 反応生成物の MALDI-TOF MS マススペクトル

和型の LPA が多く生成すると考えられる。LPA 受容体のひとつである LPA<sub>3</sub> は不飽和脂肪酸分子種をよいリガンドとするという報告<sup>8)</sup>や、ストレス性胃潰瘍モデルラットの胃潰瘍予防には不飽和型 LPA が効果的という報告<sup>9)</sup>がある。したがって、キャベツと組み合わせる食材によって生じる LPA 分子種が異なり、生理活性の強さが異なる可能性が考えられる。

(4) 調理操作による PA の産生

キャベツに調理操作を施した場合の PA 量の変化について検討した。生キャベツを千切り状、みじん切り状、ペースト状にした後、25℃で60分間静置したものから抽出した脂質を TLC で単離後、PC, PA, LPA について抽出しリン脂質定量を行った (図6)。その結果、細かくするほど PA 量が増加しており、未処理のキャベツと比較して PA 量は千切りで 6.7 倍、みじん切りで 8.4 倍、ペースト状で 17.9 倍に増加していた (図6)。このとき PA の増加に伴い PC は減少していることから、キャベツ細胞中の PLD によりキャベツ中の PC が分解されて PA へ変換されたと考えられる。また、未処理のキャベツでは存在しなかった LPA が、千切りで 13 nmol/g、みじん切りで 30 nmol/g、ペースト状で 50 nmol/g 生成していた (図6)。これ

は PLD に加え C-1 位もしくは C-2 位の脂肪酸エステルを加水分解するホスホリパーゼ A (PLA) 活性がキャベツ内に存在し、生の葉の切断に伴って活性化された PLD と

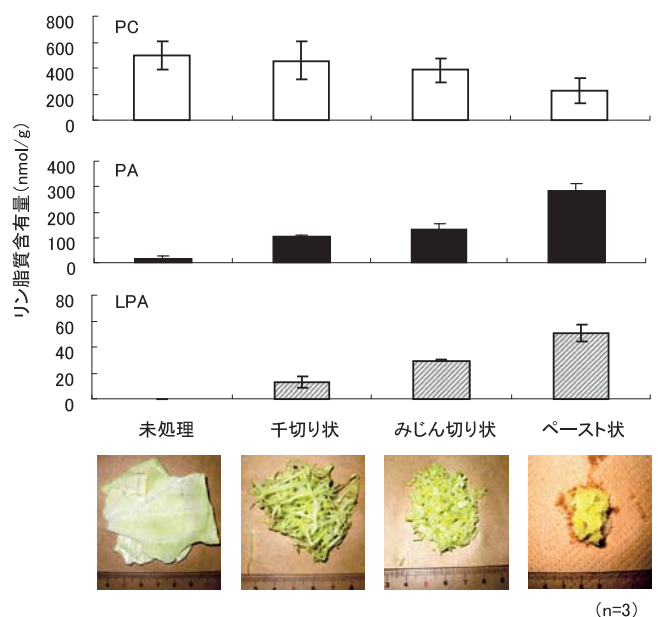


図6 調理操作による PA の産生

PLAの2つの酵素の作用によりLPAが生成したと考えられる。

#### (5) キャベツと他の食品との組み合わせ

図6に示したように、生キャベツを細かく処理するほどPAは増加したが、野菜の中には基質であるリン脂質は乏しいため、PA増加には限度があり、胃潰瘍の治癒促進に必要な有効濃度を確保できない可能性も考えられる。そこでリン脂質の多い食品との組み合わせを考えた。生キャベツを食べる方法として千切りキャベツのサラダを想定し、リン脂質に富む卵製、大豆製マヨネーズと組み合わせた。まず今回使用した卵製、大豆製マヨネーズ0.5g中のリン脂質を比較すると卵製マヨネーズにはリン脂質が2350nmol、大豆製マヨネーズには400nmolと卵製マヨネーズに多く含まれており、特にPCを76%、PEを22%と多く含有していた。大豆製マヨネーズはPCを44%、PEを26%含有していたことに加え、PIを27%と比較的多く含んでいた(図7)。キャベツ千切り3gに各マヨネーズ0.5gを組み合わせた結果、卵製マヨネーズと組み合わせた場合のPA量はキャベツ単独と比較してそれぞれ2.4倍に、大豆製マヨネーズと組み合わせたものでは2倍に増加していた(図7)。マヨネーズ中にはPAはほとんど存在していなかったことに加え、予めボイルしてPLDを失活させたキャベツはマヨネーズを和えてもPAはほとんど

生成しなかった(図7)ことより、キャベツPLDがマヨネーズ中のPCやPEといったリン脂質に作用した結果生じたものと考えられる。

また、マヨネーズ以外にもドレッシング数種類をキャベツと和えて、各リン脂質量を調べた。キャベツ千切り3gにドレッシング(ポン酢、和風ドレッシング、フレンチドレッシング)0.5gを和えた結果、キャベツのみのリン脂質量と比べて、ポン酢と和えたものではPA、LPAがやや減少しており(図8)、ポン酢中の塩分あるいは酸がPLD反応を阻害した可能性が考えられた。和風ドレッシングやフレンチドレッシングと和えたものではPAの増加は認められなかった(図8)。

以上より、PAを増加させる目的でキャベツを生食する際に和えるものの中ではリン脂質に富むマヨネーズが適しているといえる。

#### (6) キャベツPLDとアルコールの組み合わせ

PLDは、基質リン脂質よりPAを生じる加水分解作用に加え、アルコール存在下では基質リン脂質にアルコールを転移して、ホスファチジルアルコールを生じるトランスホスファチジルゼーション活性を有する(図9)。したがって、生キャベツとアルコールを同時摂取した場合には加水分解活性やそれに伴うPA産生量にも影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、キャベツPLDアッセイ

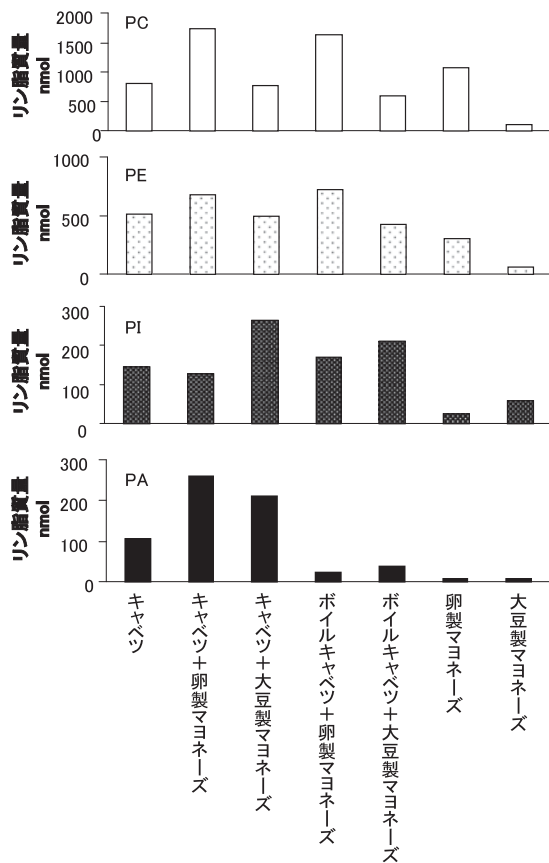


図7 千切りキャベツとマヨネーズの組み合わせによるPAの産生

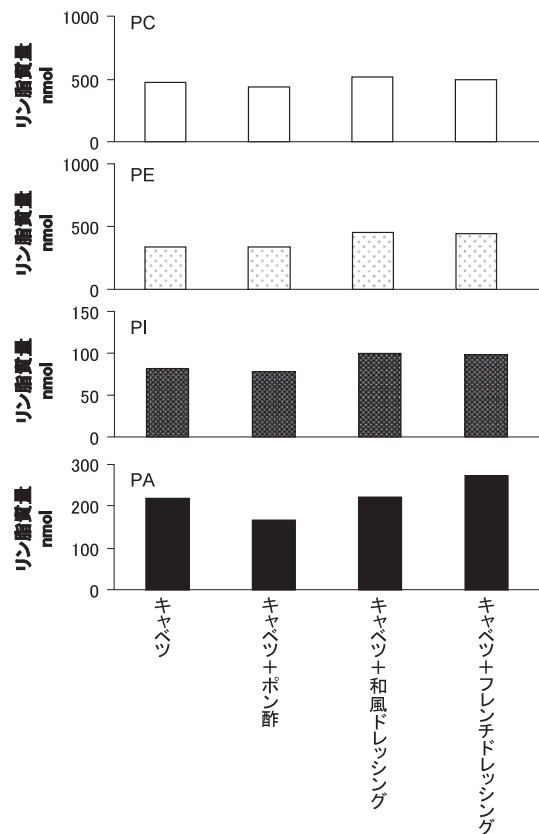


図8 千切りキャベツとドレッシングの組み合わせによるPAの産生

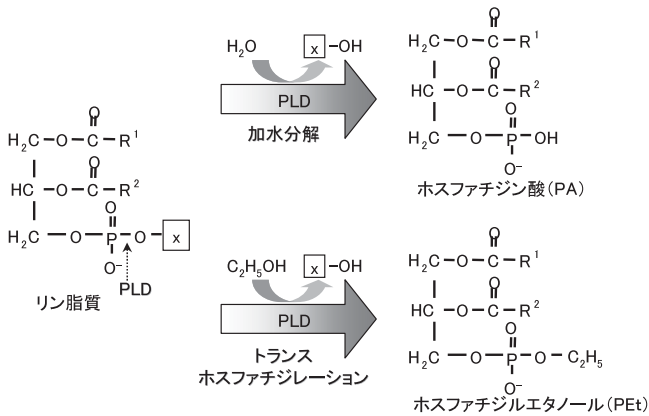


図9 PLDの加水分解反応およびトランスホスファチジレーション反応

時に終濃度が33.3%になるようエタノールを添加し、生成したリン脂質を二次元 TLC で単離したところ、コントロールでは見られないスポットが確認できた (図 10-A, B)。このスポットより脂質を抽出し MALDI-TOFMS に供した結果、 $m/z$  723, 745, 747, 769 にそれぞれ大きなイオンピークがあらわれた (図 10-C)。ホスファチジルエタノール (PEt) は 1 価のアニオンのため、ポジティブモードでは 2 個のカチオンが付加して検出される。したがって、 $m/z$  723 は 16:0/18:2 PEt に  $H^+$  と  $Na^+$  が付加した、 $m/z$  745 は 16:0/18:2 PEt に  $2Na^+$  が付加したイオンピークと考えられる。また、 $m/z$  747 は 18:2/18:2 PEt に  $H^+$  と  $Na^+$  が付加した、 $m/z$  769 は 18:2/18:2 PEt に  $2Na^+$  が付加したイオンピークと考えられる。また、MALDI によるイオン化法ではホスファチジルエタノールアミンなどの

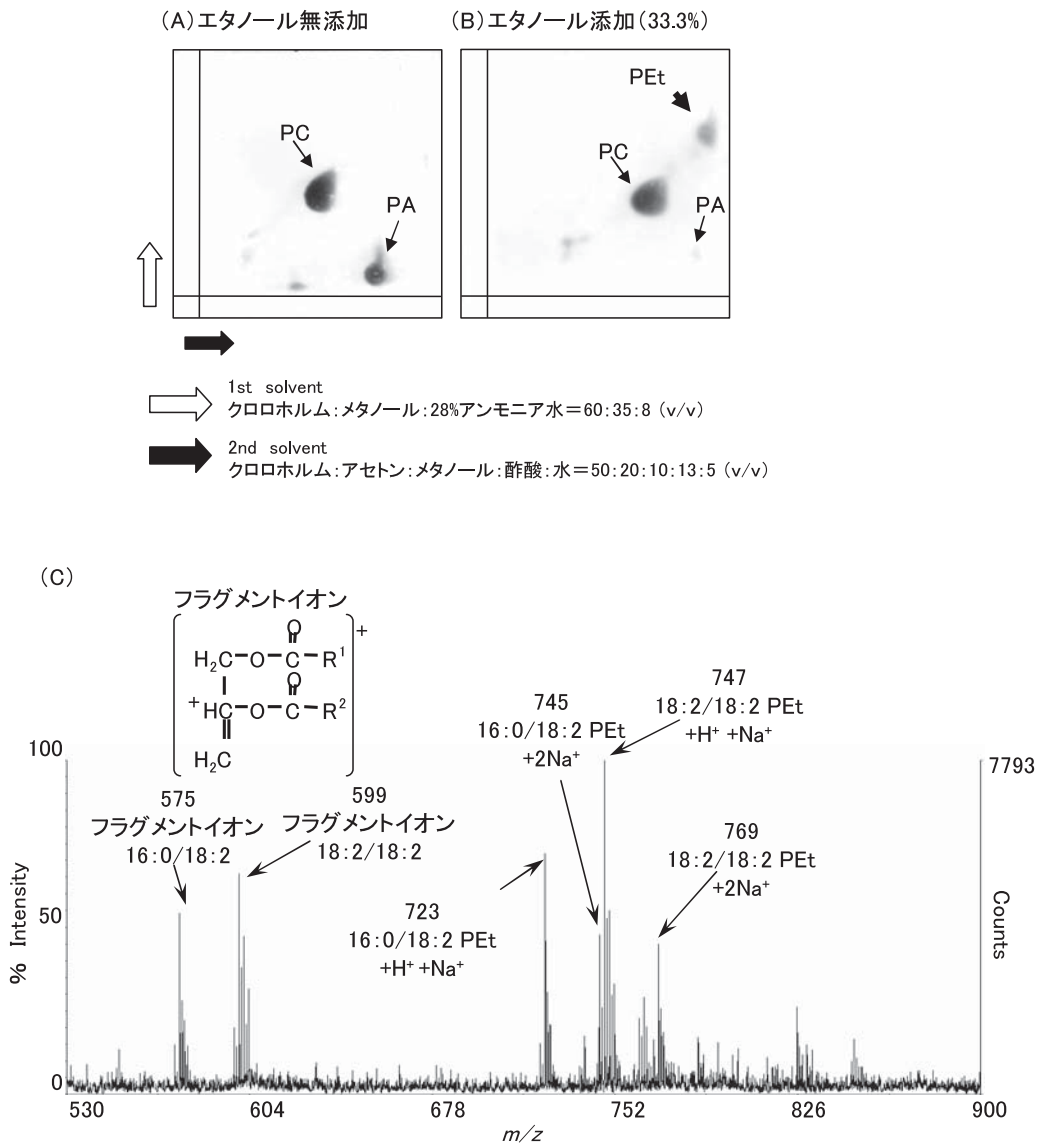


図 10 エタノール添加によるキャベツ PLD トランスホスファチジレーション反応生成物

- (A) エタノール無添加 2次元 TLC 像
- (B) エタノール添加 (33.3%) 2次元 TLC 像
- (C) PEt 画分の MALDI-TOF MS マススペクトル

リン脂質は、グリセロールとリン酸部分で開裂しジグリセリド部分のフラグメントイオンを与える。  $m/z$  575 や  $m/z$  599 はこのフラグメントイオンと考えられ、  $m/z$  575 は 16:0/18:2 分子種、  $m/z$  599 は 18:2/18:2 分子種と特定される (図 10)。以上より、キャベツ PLD 反応にエタノールが存在すると、トランスホスファチジレーションによりホスファチジルエタノールが生成することが確認できた。

次に、PLD アッセイの反応液に 5%、16.7%、33.3% のエタノールを添加して生成したリン脂質を分析した。エタノールを加えない場合は、キャベツ PLD の加水分解作用で生じた PA 量は 289.1 nmol であった (図 11)。エタノール添加濃度 5% での PA 生成量は 186.7 nmol と減少したが、その一方で、トランスホスファチジレーションによって PEt が 125.2 nmol 生成した。エタノール添加濃度が高くなるにしたがって、PA 生成量は減少していく一方、PEt 生成量は増加し、添加濃度 16.7% で 373.9 nmol 生成され最大となった。これは、反応液中のアルコール濃度の上昇に伴い、PLD のトランスホスファチジレーション作用が加水分解作用より優性となったためである。しかし、エタノール添加濃度 33.3% では PEt 生成量が 212.6 nmol と減少した。このとき、PC は PA、PEt どちらにも変換されず大部分が残存していたことより、エタノール添加濃度が高すぎると PLD の加水分解作用およびトランスホスファチジレーション作用のどちらもが阻害されると考えられる。

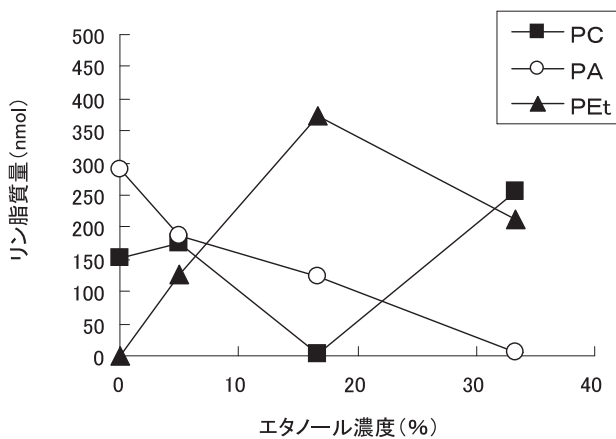


図 11 キャベツ PLD 活性に及ぼすエタノールの影響

これらの結果より、実際に生キャベツとアルコール類を同時に摂取した場合、PEt が体内で生成している可能性が考えられる。PEt は消化酵素で LPEt に変換されても、細胞増殖などの生理活性を有さないと報告されている<sup>9)</sup>。また、エタノール添加濃度が高くなるにしたがって、PA 生成量は減少していたことから、アルコールを摂取した場合は消化管内で LPA が生成しにくい状況となる可能性が考えられる。

## まとめ

キャベツはその内在酵素 PLD を持つことより、生の状態で調理すると周囲に存在するリン脂質を加水分解し、生理活性脂質 LPA の前駆体 PA を生成する。LPA は増殖因子様のリゾリン脂質メディエーターであるほか、最近では消化管粘膜上皮細胞における創傷治癒作用があることが知られており、キャベツの持つ抗潰瘍作用の一端は LPA が担っている可能性が考えられる。図 12 に示すように PA は消化酵素 PLA<sub>2</sub> により消化管内で LPA へと変換されることが判っており、胃腸内で PA から LPA を持続的に生じる徐放性の効果が期待できる。そのため、摂食時の PA 量を知ることは栄養学的に意義がある。また、LPA と比較して PA の生成は食品の組み合わせ等で増加させることができる。そこで、PA をより多く作り出すキャベツの調理法について検討したところ、細かく刻んで細胞内 PLD をよく働かせることと、リン脂質を多く含むマヨネーズと組み合わせることが効果的であることが分かった。また、生キャベツとエタノールを同時摂取した場合には、PEt が生成するとともに PA 生成量は減少したため、過度のアルコールの摂取は LPA の効率的な産生という点においても望ましくないものと考えられた。

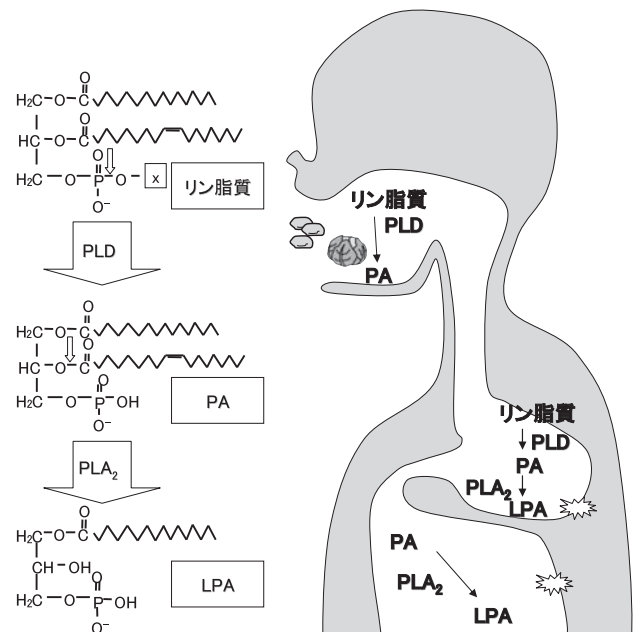


図 12 消化管内で食品から酵素的に LPA が生じる過程 (推定図)



## 謝辞

本研究は、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、田中 保准教授（前福山大学生命工学部准教授）との共同研究であり、福山大学生命工学部、里内 清教授、盛重純一博士研究員および食品機能学研究室所属学生の皆様に感謝いたします。また、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、徳村 彰教授ならびに研究室所属学生の皆様にお礼申し上げます。

## 文献

- 1) Choi, S., Lee, M., Shiu, AL., Yo, SJ., and Aponte, GW. : *Am. J. Physiol.*, **292**, G98-G112 (2007)
- 2) Li, C., Dandridge, KS., Di, A., Marrs, KL., Harris, EL., Roy, K., Jackson, JS., Makarova, NV., Fujiwara, Y., Farrar, PL., Nelson, DJ., Tigyi, GJ., and Naren, AP. : *J. Exp. Med.*, **202**, 975-86 (2005)
- 3) Tanaka, T., Horiuchi G., Matsuoka M., Hirano, K., Tokumura, A., Koike, T., and Satouchi, K. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 1293-1300 (2009)
- 4) Bligh, EG., and Dyer, WJ. : *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959)
- 5) Bartlett, GR. : *J. Biol. Chem.*, **234**, 466-468 (1959)
- 6) Morishige, J., Urikura, M., Takagi, H., Hirano, K., Koike, T., Tanaka, T., and Satouchi, K. : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **24**, 1075-84 (2010)
- 7) Hirohara, J., Sugatani, J., Okumura, T., Sameshima, Y., and Saito, K. : *Biochim. Biophys. Acta*, **919**, 231-238 (1987)
- 8) Bandoh, K., Aoki, J., Taira, A., Tsujimoto, M., Arai, H., and Inoue, K. : *FEBS Lett.*, **478**, 159-65 (2000)
- 9) Adachi, M., Horiuchi, G., Ikematsu, N., Tanaka, T., Terao, J., Satouchi, K., Tokumura, A. : *Dig. Dis. Sci.* (2011) in press
- 10) 卷出久美子, 河野邦行, 北村 一, 有馬直明, 青木淳賢 : *蛋白質 核酸 酵素*, **54**, 29-39 (2009)