HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	高度不飽和リン脂質の酵素的改変と機能特性
Author(s)	細川, 雅史; 高橋, 是太郎
Citation	オレオサイエンス, 2(1), 19-25
Issue Date	2002-01-01
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/42797
Type	article
Note	総合論文
File Information	takahashi_JOCS2.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

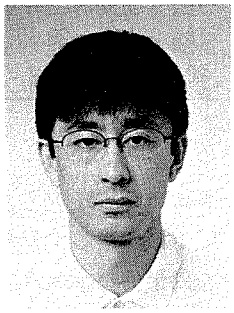
総合論文

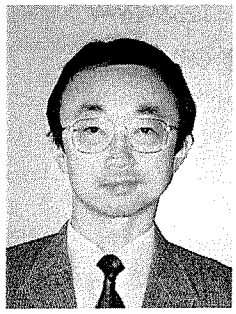
高度不飽和リン脂質の酵素的改変と機能特性

Bioconversion of Highly Unsaturated Phospholipids and It's Biological Functions

細川雅史
北海道大学大学院水産科学研究科
〒041-8611
北海道函館市港町 3-1-1

Masashi HOSOKAWA
Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University
3-1-1 Minato, Hakodate, Hokkaido 041-8611





高橋是太郎
北海道大学大学院水産科学研究科
〒041-8611
北海道函館市港町 3-1-1

Koretaro TAKAHASHI
Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University
3-1-1 Minato, Hakodate, Hokkaido, 041-8611

Abstract: Biocatalytic approaches were rational ways to prepare and modify highly unsaturated phospholipids (HUFA-PL). The prepared HUFA-PL showed an antitumor effect *in vivo*, a promotional effect on cell differentiation, and an increase in deformability of erythrocytes *in vitro*.

Key words: Highly Unsaturated Phospholipid, Phospholipase, Lipase, Conversion, Biological Functions

1　はじめに

エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）をアシル基にもつ高度不飽和リン脂質は，高度不飽和脂肪酸とリン脂質形態特有の機能を併せ持つ，多機能型の脂質である。リン脂質は，古くから食品乳化剤や医薬品素材として利用されていることから，高度不飽和脂肪酸の有用機能をより幅広い用途で利用するために，効果的な構造だともいえる[1]。

高度不飽和リン脂質に特徴的な機能として，これまでに骨髄性白血病細胞の分化誘導作用[2]，5-リポキシゲナーゼに対する特異的阻害作用[3]，物質の膜透過性向上作用[4] などが報告されている（それらは総説にまとめられているので参照頂きたい[5,6]）。最近では，脳卒中易発性高血圧自然発症ラットに対する延命効果[7] といった経口投与における新たな機能性も見出されている。高度不飽和リン脂質の簡便な調製法や供給法を確立できれば，その機能解析が詳細に進み，次世代型機能性脂質の構築，ひいては利用方途の拡大へとつながるであろう。

その基盤となる技術として，脂質関連酵素の利用が挙げられる。高度不飽和リン脂質は，分子種や塩基部分の化学形態により多様な構造をなす。そのため，特異的な反応を温和な条件下で進めることができる酵素剤の利用は理に適ったものといえる。目的とする改変反応を行うには通常加水分解酵素を用いなければならず，反応平衡を所望の方向にもっていく工夫が必要となる。そのためには酵素近傍の微量水分の制御法など，新たな要素技術の開発が欠かせない。

本稿では，高度不飽和リン脂質の酵素的改変法について副反応の制御法を主点に解説する。また，高度不飽和リン脂質源として水産廃棄物が有望であること，高度不飽和リン脂質の機能特性に関して，筆者らの研究を主に紹介する。EPA，DHA に限らず，アラキドン酸を含有するリン脂質も重要な高度不飽和リン脂質ではあるが，その内容に関しては紙面の都合上割愛した。

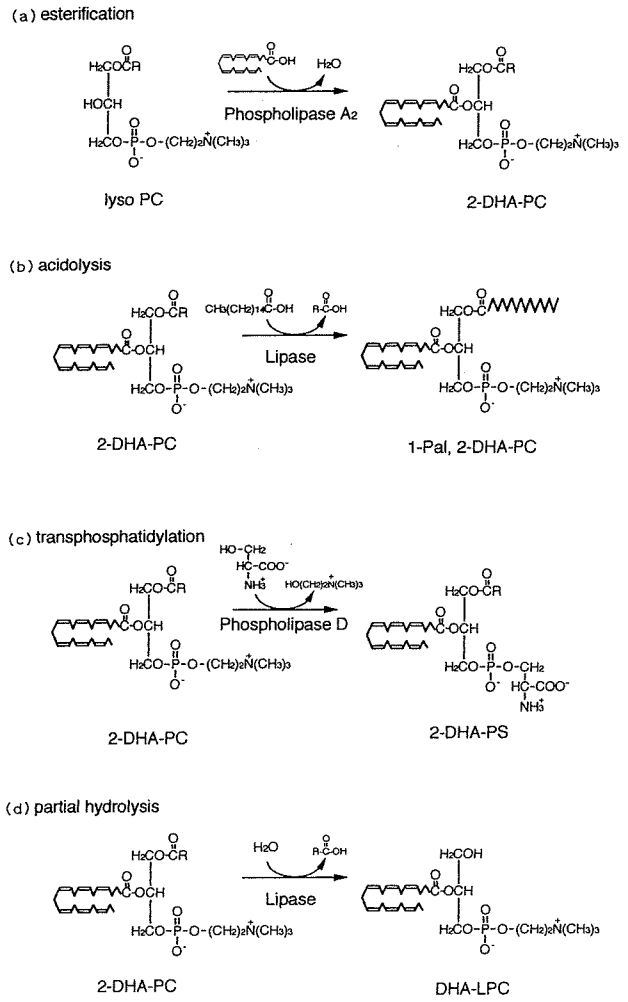
2　高度不飽和リン脂質分子種の合成反応

2・1　リン脂質 *sn*-2 位への高度不飽和脂肪酸の導入

生体内で優れた生理機能性を発現する高度不飽和リン脂質は，*sn*-2 位に高度不飽和脂肪酸を結合する。このようなリン脂質を調製するためには，*sn*-2 位に特異性を示すホスホリパーゼ A_2 を用いたエステル合成反応が有効である（Scheme 1(a)）。

反応系に含まれる水分量を微量に制御することで，リゾリン脂質と EPA や DHA とのエステル合成反応が進み，*sn*-2 位に高度不飽和脂肪酸が選択的に導入される

連絡者：高橋　是太郎
E-mail : kore@fish.hokudai.ac.jp



Scheme 1

(Table 1)。しかし，ホスホリパーゼ A_2 は，油脂の改質に広く用いられているリパーゼと比較して，至適水分量の調節が難しく，高い反応収率を得ることがこれまで困難であった[8-10]。筆者らは，主副反応の加水分解を抑制するため，Water Mimics（必須水分代替物）としてホルムアミドを介したホスホリパーゼ A_2 の活性化[11]，減圧下における水分の制御と反応が平衡状態に達したときの効果的な余剰水分及びホルムアミドの除去法について検討した。その結果，反応平衡後のさらなる乾燥酵素剤の添加，反応容器内壁面に凝結する余剰ホルムアミドと水分の払拭を行うことによって，76 モル%以上の合成率を得るに至った（Table 2）[12]。

Table 1　Positional Specificity of Phospholipase A_2-Mediated Esterification

	Synthesized 2-EPA-PE	Positional analysis of fatty acid	
		sn-1 position of PE	*sn*-2 position of PE
16：0	10.1	18.8	0.4
18：0	3.2	5.6	0.2
18：1	6.6	12.8	0.6
18：2	29.6	56.7	2.7
20：5 (EPA)	47.2	0.1	94.5

一方，ジアシル型リン脂質の *sn*-2 位をホスホリパーゼ A_2 によって，直接高度不飽和脂肪酸と交換する反応も可能である。しかし，高度不飽和脂肪酸の交換率，並びに反応後に回収できるリン脂質の収率が低いことから，現時点では有用な方法とはいえない[13-15]。これに対し，ランダム型のリパーゼを用いればリン脂質の *sn*-1 位，*sn*-2 位の脂肪酸を区別することはできなくなるが，比較的容易にエステル交換反応によって高度不飽和リン脂質を得ることが可能である[16]。

2・2　高度不飽和リン脂質の *sn*-1 位脂肪酸の交換

高度不飽和リン脂質の機能性や作用の強弱は，その分子種によってしばしば異なる。そのため *sn*-1 位のアシル基を所望のものに置換する必要を生じる場合がある。

Table 2　Comparison of Depriving Water Techniques on PLA_2 Mediated 2-DHA-PC Synthesis Conducted under Decompression Condition[12]

Technique	Temp.	Pressure	Time	2-DHA-PC yield (mol%)
Additional PLA_2 (60mg) after 48h	40 ℃	Decompression	120 h	76.4
Wiping out condensed dews*	〃	〃	〃	76.1
With molecular sieve trap	〃	〃	〃	70.7
Under elevated temperature	50 ℃	〃	48 h	44.7
Dehumidify over P_2O_5	40 ℃	Atmospheric	120 h	47.9

Reaction mixture : LPC 110 mg, DHA-FFA 180 mg, PLA_2 60 mg, glycerol 5,500 mg, $CaCl_2$ 3 μmol, Formamide 0.5 ml. Decompression was carried out under $80-120\times10^{-3}$ Torr.
*Dews inside the walls of the containers were identified as mixtures of formamide and water.

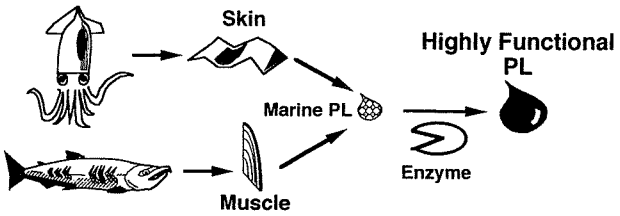
sn-1 位に特異性を示すリパーゼを用いることで，Scheme 1(b)[17-20] のように One step の反応でも所望の脂肪酸との交換が可能である。

このアシドリシス反応においても，回収率の低下を最小限に抑え高い脂肪酸交換率を得るために，Water Mimics の利用と微量水分の制御が極めて重要になる[18, 20]。筆者らは，リパーゼの活性化に必要な水の一部をプロピレングリコールに置換することで，効率的に反応が進むことを明らかにした[20]。Water Mimics の利用法や微量水分の制御法の詳細に関しては，既に発表した総説を参照されたい[21]。

3　天然物由来の高度不飽和リン脂質の改変反応

3・1　水産廃棄物中の高度不飽和リン脂質

高度不飽和リン脂質を比較的多く含む給源としては，水産物や魚油を与えた養鶏の卵黄リン脂質が挙げられる。筆者らは水産資源の有効利用を図る目的から，特に水産廃棄物に含まれるリン脂質に着目し，その利用方途について研究を進めている（Scheme 2）。



Scheme 2

イカの加工工程で排出される皮やミール中には，DHA の組成比が 30%以上にも及ぶリン脂質（Table 3）が比較的豊富に含まれており，その抽出方法は既に確立されている[22]。また，河川に遡上したシロサケは体量が 4 kg 以上にも及ぶが，孵化に用いる生殖巣を除きその殆どが廃棄されている。その数は北海道の河川のみでも年間約 220 万尾と推定[23] されており，有効な利用法の開発が切望されている。このようなサケの筋肉部からはエタノールを用いて容易に粗リン脂質を抽出することができる。筋肉や精巣から抽出したリン脂質は，脂肪酸組成に占める EPA や DHA の割合が非常に高く（Table 3），両者の合計が筋肉 PC，PE で 55%以上，精巣 PE で 50%前後にも及び，入手時期が限定される難点はあるが，未利用の高度不飽和リン脂質源として極めて有望である。その他各種水産動物の内臓を包む膜組織や未利用魚卵も有望な給源になり得る。

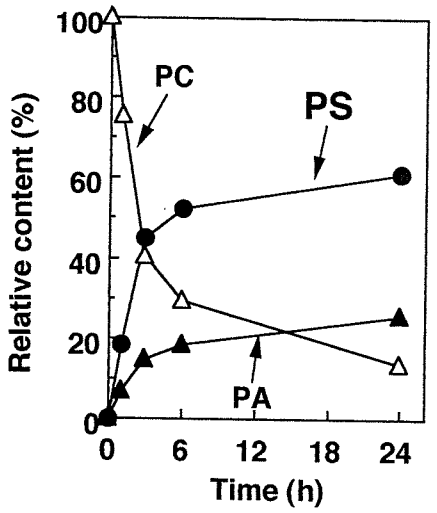


Fig. 1　Transphosphatidylation of Squid Skin Phosphatidylcholine with Phospholipase D.[26]
Reaction conditions; 0.8 unit of phospholipase D, 3 mL of 3.4 M L-serine-containing 0.2 M acetate buffer (pH 5.5), 2.5 mL of ethyl acetate, 30 mg of squid skin phosphatidylcholine, 30℃, 500 rpm.

3・2　高度不飽和リン脂質のホスファチジル基転移反応

PC と PE を主成分とする水産物由来のリン脂質は，

Table 3　Fatty Acid Composition of Marine Phospholipids and Converted Phospholipids

	Squid skin lecithin*1	Squid skin PC	Squid skin PS*2	Salmon muscle PC	Salmon muscle PE	Salmon testis PE	Salmon testis LPE*3	PDPS*4	ODPE*4
16 : 0	30.0	36.9	38.0	21.4	16.1	11.2	0.5	46.6	1.4
18 : 0	3.8	1.6	1.7	0.8	5.7	3.6	0.4	0.6	tr.
18 : 1	2.9	2.0	1.9	5.6	10.0	20.5	0.3	0.8	45.8
20 : 4	3.2	0.9	1.1	1.0	9.0	4.5	6.4	tr.	tr.
20 : 5 (EPA)	15.1	8.0	8.9	20.1	9.0	30.7	42.4	2.7	1.4
22 : 6 (DHA)	36.8	44.2	43.3	40.8	46.5	20.3	44.7	46.6	49.1

*1; total phospholipids separated from squid skin, *2; phosphatidylserine (PS) converted from squid skin PC by phospholipase D-mediated transphosphatidylation, *3; lysophosphatidylethanolamine prepared from salmon testis phosphatidylethanolamine (PE) by lipase-mediated partial hydrolytic reaction, *4; PS and PE prepared with enzymatic reaction.

既にそれ自体に有用生理機能[7]が報告されているが，塩基部分の異なるリン脂質形態に変換することによって，さらなる新規機能を期待できる素材に変換できる。その一例としては，近年脳機能改善効果[24,25]が注目されているホスファチジルセリンがあげられる。

イカ皮由来の高度不飽和リン脂質を基質として，ホスホリパーゼDを介したホスファチジル基転移反応（Scheme 1(c)）を行うことにより，脂肪酸組成に影響することなく高度不飽和ホスファチジルセリンを得ることができる（Fig. 1，Table 3）[26]。ホスファチジル基転移反応では，界面状態が反応に大きく影響することが明らかとなってきた。食品にも利用可能な*n*-ヘキサンを用いる場合，単にアセトンやセリン溶液との混合比を工夫することのみでも効率的に反応が進むことが判明した[21]。このようなホスファチジル基転移反応は，いうまでもなく2で解説した各種高度不飽和リン脂質の塩基交換にも適用可能であり，ホスファチジルセリンやホスファチジルエタノールアミンへの転移反応を併用することによって，様々な高度不飽和リン脂質分子種の調製ができる（Table 3）。

ホスホリパーゼDを用いたホスファチジル基転移反応に関しては，これまでセリンやエタノールアミンへの転移反応以外にも様々な反応が報告されており，多様な応用が可能である[27-29]。

3・3　部分加水分解反応を利用した高度不飽和リゾリン脂質の調製

水産物以外の高度不飽和リン脂質源としてはDHA強化卵黄リン脂質が挙げられる。しかし，脂肪酸組成に占めるDHAの割合が最大でも10%程度にとどまることから，DHAの高濃度化が強く望まれてきた。その解決策として，Scheme 1(d)に示す部分加水分解反応が有効である[30]。この反応では，リン脂質分子の高度不飽和脂肪酸のエステル結合までもが加水分解されないように，反応系中の水分量を中間水分活性域に制御することがポイントになる。筆者らの実験では，あらかじめ$a_w = 0.44$に調整したリパーゼを用いて部分加水分解反応を行うことにより，回収されるリン脂質中のDHA含有率を3倍以上にまで濃縮できた（Fig. 2）[30]。イカ皮リン脂質を用いた場合でも同様に，DHA組成比を60%程度にまで上げることができた（Fig. 2）[30]。生成するリゾリン脂質中に専ら高度不飽和脂肪酸が濃縮されており，リゾホスファチジルコリン画分では，EPAとDHAの組成比の合計が約85%程度にまで達していた。

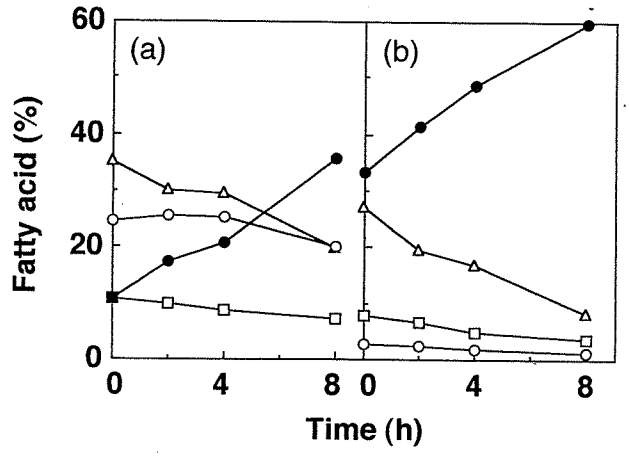


Fig. 2　Concentration of DHA in Phospholipid Fraction by Lipase Mediated Partial Hydrolytic Reaction.[30]
(a); DHA enriched egg-yolk lecithin, (b); squid skin lecithin.
Reaction conditions; 53 mg of Lipozyme IM (immobilized enzyme, adjusted to $a_w = 0.44$), 2.0 mL of *n*-hexane, 20 mg of lecithin, 40℃, 75 strokes / min.
-△- palmitic, -□- stearic, -○- Oleic, -●- DHA

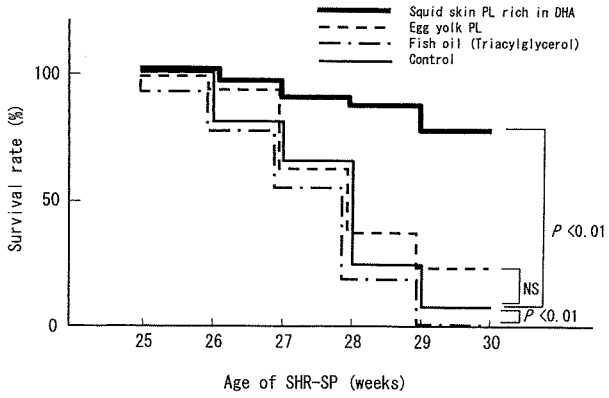


Fig. 3　Effect of Feeding with Diet Containing Various Type of Fatty Acids on Survival of SHR-SP[7].
PL; phospholipid.

4　高度不飽和リン脂質の機能特性

4・1　経口投与における生理機能

最近，高度不飽和リン脂質の経口投与による脳卒中易発性高血圧自然発症ラットに対する延命効果（Fig. 3）[7]やddYマウスに対する抗アレルギー効果[32]，また，メラトニンの分泌を回復させるといった脳機能改善効果が報告されている[33]。特に注目されることは，高度不飽和リン脂質の効果がトリグリセリド形態よりも顕著であるという点である。その要因として，腸管吸収効率の差などが推察されているが，現時点では殆ど明らかにされてはいない。今後の研究展開が期待される。

4・2　細胞感受性の調節機能

白血病細胞は，レチノイン酸や活性型ビタミンD_3な

どにより，正常様細胞に分化が誘導される[34, 35]。しかし一方で，過剰の薬剤による副作用が問題となり，多剤併用による投与量軽減に関する研究が進められている。高度不飽和リン脂質に分化誘導剤との併用効果が認められれば，薬剤減量への応用が期待できる。上記した方法で合成したいくつかの高度不飽和リン脂質分子種を用いて，ヒト前骨髄性白血病細胞（HL-60 細胞）に対するレチノイン酸や dibutyryl cAMP の分化誘導作用に及ぼす効果を比較した結果[36-38]，*sn*-1 位にパルミチン酸またはオレイン酸を有し，*sn*-2 位が DHA の分子種における併用効果が顕著であった。また，同一分子種（同一の脂肪酸残基の組み合わせ）であっても PC 形態に比べ PE 形態との併用による効果が高く（Fig. 4），同時に弱いながらも増殖抑制効果も認められた。このような併用効果は，*sn*-2 位がオレイン酸のリン脂質分子種では認められず，また，これまで報告されている遊離脂肪酸形態の DHA の作用[39]よりも強いものであった（Fig. 4）。

c-*myc* 癌遺伝子[40]は多くの腫瘍細胞で過剰発現し，無秩序な増殖への関与が示唆されている。DHA-PE

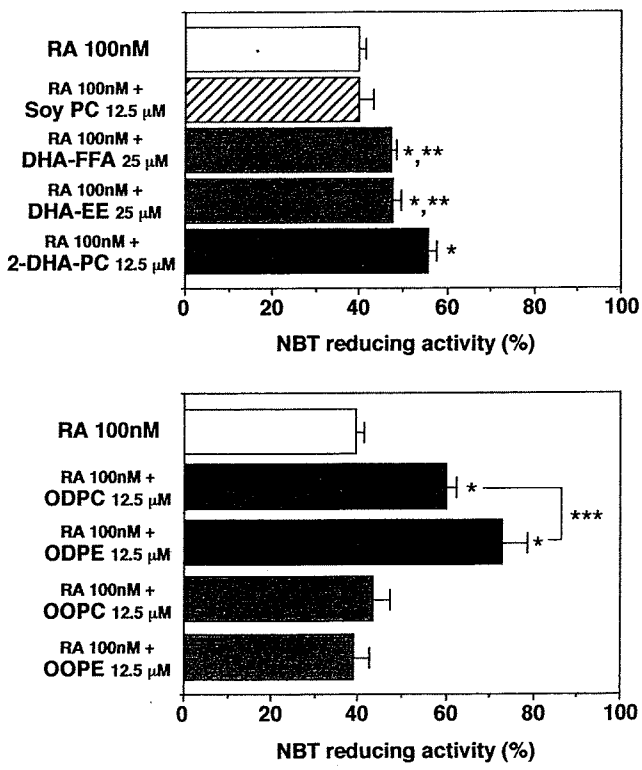


Fig. 4　Effect of 2-DHA Phospholipid on RA-induced Differentiation of HL-60 Cells.
Values represent means ± S.D., $^{*}P < 0.01$ vs. RA 100 nM, $^{**}P<0.01$ vs. 2-DHA-PC 12.5 μM, $^{***}P < 0.01$ vs. ODPC 12.5 μM.
RA; retinoic acid, 2-DHA-PC; phosphatidylcholine containing DHA at *sn*-2 position, ODPE; 1-oleoyl, 2-docosahexaenoyl phosphatidylethanolamine.

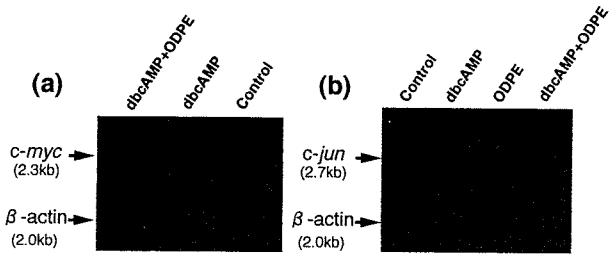


Fig. 5　Expression of c-*myc* and c-*jun* mRNA in HL-60 Cells Treated with Dibutyryl cAMP and 2-DHA Phosphatidylethanolamine.
(a); HL-60 cells (5×10^4cells/mL) were incubated with 100 μM dbcAMP for 48h after preincubation with ODPE for 24h.
(b); HL-60 cells (5×10^4cells/mL) were incubated with 200 μM dbcAMP and 0.5 mM IBMX for 24 h after preincubation with 50 μM ODPE for 24 h. dbcAMP; dibutyryl cAMP, ODPE; 1-oleoyl, 2-docosahexaenoyl phosphatidylethanolamine.

（*sn*-2 位 DHA 結合型 PE）で前処理し，dibutyryl cAMP で分化誘導した HL-60 細胞では，c-*myc* 癌遺伝子の発現低下（Fig. 5）が認められている。またこのとき，細胞の分化に重要な役割を果たす AP-1 転写因子をコードする c-*jun* 遺伝子[41]の顕著な発現増加（Fig. 5）も引き起こされており，遺伝子発現の制御を介した高度不飽和リン脂質による細胞感受性亢進作用の様式が推察される。

また最近では，高度不飽和リン脂質が細胞膜に存在する MHC I 糖タンパク質の α-chain の分子構造を変化させることも報告されている[42]。MHC I 糖タンパク質は T-cell の活性を制御する抗原であることから，高度不飽和リン脂質による免疫細胞の制御機能が提唱されている。

一方，細胞の感受性との関係は十分明らかにされてはいないが，*in vivo* における抗腫瘍作用も報告されている。Jenski ら[43]は骨髄性白血病 T 27 A 細胞を接種したマウスに，DHA-リン脂質リポソームを腹腔内注射することにより，延命効果がみられることを報告し，筆者らも，Meth A 細胞を移植したマウスに DHA-リン脂質リポソーム（PC：PS＝7：3）を局部注射することにより，繊維芽肉腫腫瘍組織に対する比較的強い増大阻止効果（Fig. 6）[44]を認めている。この時，*in vitro* においては Meth A 細胞の減少と同時に，弱いながらもマクロファージ様細胞の増殖効果と貪食能の亢進を認めている（未投稿）。しかし，マイタケの抗腫瘍性成分に対しては DHA-PC が抗腫瘍促進効果を示すものの DHA-PC のみでは抗腫瘍性を示さなかった（佐々木甚一氏未発表）ことから，リン脂質の塩基部分が抗腫瘍性に深く関わっていることが示唆された。今後，リン脂質分子種と抗腫瘍

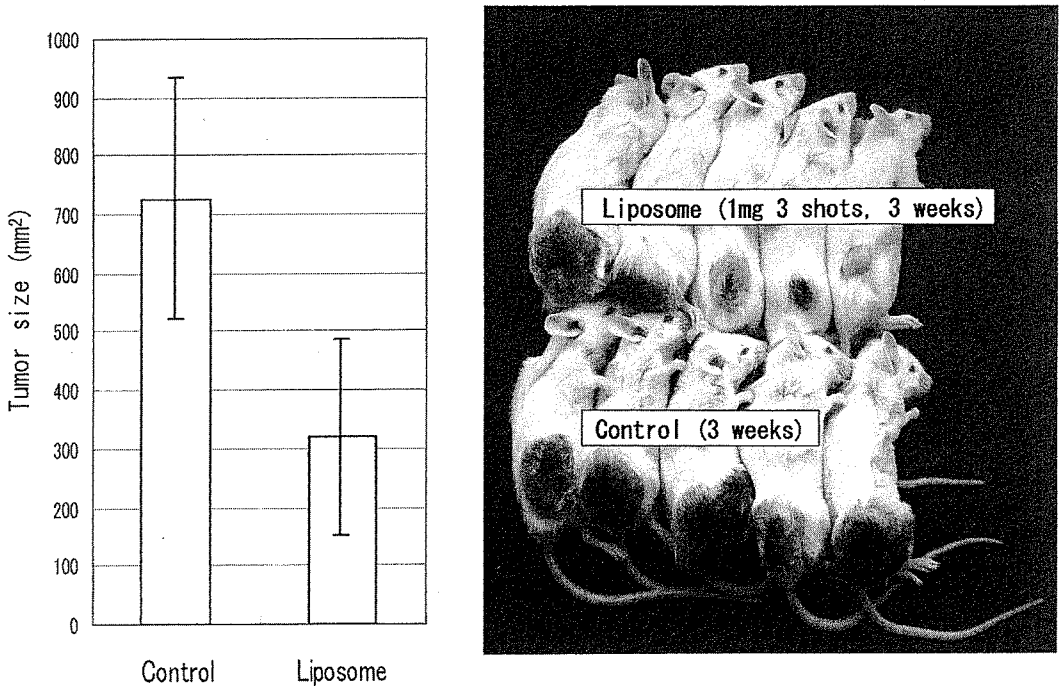


Fig. 6　Antitumor Effect of 2-DHA Phospholipid Liposome on Meth-A Fibrosarcoma Bearing BALB/c Mice.[44]

効果の関係について塩基部分にも着目しながら詳細に検討する必要がある。

4・3　赤血球変形能の改善作用

高度不飽和リン脂質は，*in vitro* でヒト赤血球に取り込まれると変形能を向上させてマイクロチャンネルアレーにおける赤血球の流速を増す[45]。特に，Scheme 1 (d) のプロセスで調製される高度不飽和 2-アシル型リゾリン脂質は，低濃度でも速やかに赤血球に取り込まれ，変形能向上効果を発現する (Fig. 7)。この特性は，同一反応条件で調製した大豆由来の 2-アシル型リゾリン脂質では認められない。また，ホスホリパーゼ A_2 によって調製した従来の 1-アシル型リゾリン脂質と比較して，溶血性の低いことが特徴である[45]。

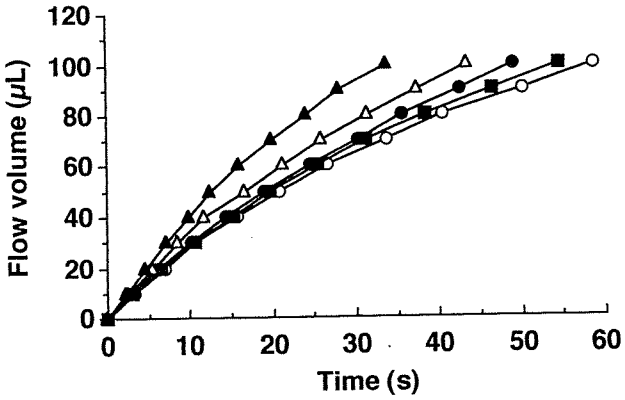


Fig. 7　Flow Curves of Human Erythrocytes Treated with Some PCs and DHA-Egg LPC for 1 h Obtained through Evaluation of Deformability with Artificial Capillary Model.[45]
DHA-egg PC, phosphatidylcholine separated from DHA enriched egg-yolk lecithin; DHA-egg LPC, lysophosphatidylcholine prepared by partial hydrolytic reaction of DHA-egg PC.
-○- control, -●- soy PC 10 μM, -■- DHA-egg PC 10 μM, -△- DHA-egg LPC 5 μM, -▲- DHA-egg LPC 10 μM

このような高度不飽和 2-アシル型リゾリン脂質は，血清脂質中に少なからず存在し（リン脂質組成中 5～20%），脳にアラキドン酸や DHA を輸送する重要な脂質形態であることが示唆されている[46, 47]。しかし，2-アシル型リゾリン脂質の経口投与を介した効果に関しては報告が全くみられないことから，今後この点を含めた詳細な検討が必要である。何れにしても天然物より誘導した新しい形態の高度不飽和リン脂質として興味深い。

5　おわりに

本稿では，筆者らの研究成果を中心に高度不飽和リン脂質の分子種や化学形態を改変する方法について概説するとともに，水産廃棄物中に高度不飽和リン脂質が含まれていることにも触れた。食品リサイクル法が施行され，これらを積極的に利用していくことが益々重要になってきた。そのためのインセンティブを与えるためには，先ず第一に学術的に裏付けられた作用機作の解明が

必要である。もとよりグリセロリン脂質はbioavailability（生体親和性・生体適合性）に優れた化学形態であることから，その利用方途は極めて広いと考えられる。機能解明のみならず新規利用法の開発が今後の課題である。多方面にわたる研究展開が望まれる。

文　献

1) 原　健次，（1993）生理活性脂質の生化学と応用，幸書房.
2) Suzuki, M., Asahi, K., Isono, K., Sakurai, A. & Takahashi, N., (1992) *Develop. Growth & Differ.*, 34, 301.
3) Matsumoto, K., Morita, I., Hibino, H. & Murota, S., (1993) *Prostaglansins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 49, 861.
4) Stillwell, W., Ehringer, W. & Jenski, L.J., (1993) *Lipids*, 28, 103.
5) 日比野英彦，田中幸久，（1994）油化学，43, 687.
6) 高橋是太郎，細川雅史，（2000）脂質栄養学，9, 19.
7) 井上良計，（2001）*New Food Industry*, 43, 22.
8) Na, A., Eriksson, C., Eriksson, S.G., Osterberg, E. & Holmberg, K., (1990) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 766.
9) Pernas, P., Oliver, J.L., Legoy, M.D. & Bereziat, G., (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 168, 644.
10) Hosokawa, M., Takahashi, K., Hatano, M. & Egi, M., (1995) *Int. J. Food Sci. Technol.*, 29, 721.
11) Hosokawa, M., Takahashi, K., Kikuchi, Y. & Hatano, M., (1995) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 1287.
12) Takahashi, K., Hosokawa, M., Ueno, T., Norinobu, S. & Mankura, M., (2001) 92 nd AOCS Annual Meeting & Expo Abstracts, S 18.
13) Hosokawa, M., Ito, M., & Takahashi, K., (1998) *Biotechnol. Techniques*, 12, 583.
14) Park, C.W., Kwon, S.J., Han, J.J. & Rhee, J.S., (2000) *Biotechnol. Lett.*, 22, 147.
15) Mutua, L.N. & Akoh, C.C., (1993) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 125.
16) 中里昌幸，原　節子，戸谷洋一郎，（1997）油化学，46, 791.
17) Yagi, T., Nakanishi, T., Yoshizawa, Y. & Fukui, F., (1990) *J. Ferment. Bioeng.*, 69, 23.
18) Svensson, I.P., Adlercreutz, P., & Mattiasson, B., (1992) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 986.
19) Mustranta, A., Aura, A-M., Forssell, P., Suortti, T. & Poutanen, K., (1994) *Biocatalysis*, 9, 181.
20) Hosokawa, M., Takahashi, K., Miyazaki, N., Okamura, K. & Hatano, M., (1995) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 421.
21) Takahashi, K. & Hosokawa, M., (2001) *Lipid Biotechnology*, (Kuo, T.M. & Gardner, H.W. edn), Marcel Dekker, New York, P. 517.
22) 穂苅勝利，長谷川栄治，関　陽平，特開 2000-60432
23) 北海道定置漁業協会（2000）さけ・ます流通状況調査報告，p.78.
24) Crook, T.H., Thinklenberg, J., Yesavage, J., Petrie, W., Nunzi, M.G. & Massari, D.C., (1991) *Neurology*, 41, 644.
25) 田中和彦，（1999）*New Food Industry*, 41, 21.
26) Hosokawa, M., Shimatani, T., Kanada, T., Inoue, Y. & Takahashi, K., (2000) *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4550.
27) Juneja, L.R., Hibi, N., Inagaki, N., Yamane, T & Shimizu, S., (1987) *Enzyme Microb. Technol.*, 9, 350.
28) Shoto, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. & Ueda, T., (1988) *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 209.
29) Takami, M., Hidaka, N., Miki, S. & Suzuki, Y., (1994) *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 1716.
30) Ono, M., Hosokawa, M., Inoue, Y. & Takahashi, K., (1997) *J. Jpn Oil Chem. Soc.* (*J. Oleo. Sci.*), 46, 867.
31) Ono, M., Hosokawa, M., Inoue, Y. & Takahashi, K., (1997) *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 1415.
32) 田中幸久，友部（入鹿山）容子，守沢和也，土田　衛，中野善郎，日比野英彦，（2000）油化学，49, 75.
33) Zaouali-Ajina, M., Gharib, A., Durand, G., Gazzah, N., Claustrat, B., Gharib, C. & Sarda, N., (1999) *J. Nutr.*, 129, 2074.
34) Breitman, T.R., Selonics, S.E. & Collins, S.J., (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 2936.
35) MaCarthy, D.M., San Miguel, J.F., Freake, H.C., Green, P.M., Zola, H., Catovbky, D. & Goldman, J.M., (1983) *Leuk. Res.*, 7, 51.
36) 細川雅史，大島宏哲，甲野裕之，高橋是太郎，羽田野六男，小田島粛夫，（1993）日本水産学会誌，59, 309.
37) Tochizawa, K., Hosokawa, M., Kurihara, H., Kohno, H., Odashima, S. & Takahashi, K., (1997) *J. Jpn Oil Chem. Soc.* (*J. Oleo. Sci.*), 46, 382.
38) Hosokawa, M., Sato, A., Ishigamori, H., Kohno, H., Tanaka, T. & Takahashi, K., (2001) *Jpn. J. Cancer Res.*, 92, 666.
39) Burns, C.P., Petersen, E.S., North, J.A. & Ingraham, L.M., (1989) *Cancer Res.*, 49, 3252.
40) Shimizu, N., Nakamura, H., Kadota, T., Kitajima, K., Oda, T., Hirano, T. & Utiyama, H., (1994) *Cancer Res.*, 54, 3561.
41) Liebermann, D.A., Gregory, B. & Hoffman, B., (1998) *Int. J. Oncol.*, 12, 685.
42) Jenski, L.J., Nanda, P.K., Jiricko, P. & Stillwell, W., (2000) *Biochim. Biophys. Acta.*, 1467, 293.
43) Jenski, L.J., Zerouga, M. & Stillwell, W., (1995) *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.*, 210, 227.
44) 藤本章人，佐々木甚一，細川雅史，高橋是太郎，（2001）脂質生化学研究，43, 318.
45) Hosokawa, M., Ono, M., Takahashi, K. & Inoue, Y., (1998) *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* (*J. Oleo. Sci.*), 47, 1313.
46) Croset, M., Brossard, N., Polette, A. & Lagarde, M., (2000) *Biochem. J.*, 345, 61.
47) Thies, F., Pillon, C., Moliere, P., Lagarde, M. & Lecerf, J., (1994) *Am. J. Physiol.*, 267, R 1273.