

氏 名	にい ぜき のり ふみ 新 関 紀 文
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1248 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Mechanism of Biosynthesis of Trimethylamine Oxide in Tilapia (ティラピアにおけるトリメチルアミンオキシドの生合成機構)

(主 査)
論文調査委員 教 授 坂 口 守 彦 教 授 田 中 克 教 授 内 田 有 恆

論 文 内 容 の 要 旨

海産魚介類の組織には、一般に含窒素低分子化合物の一種、トリメチルアミンオキシド (TMAO) が多量に含まれている。この化合物は海産魚臭の原因となる揮発性有機塩基、トリメチルアミン (TMA) の母体となるところから水産業上重要な原料成分である。しかし、TMAO の起源や合成経路などに関しては、その還元体である TMA が直接の前駆体であること以外ほとんど不明であった。近年ビクトリア湖産のナイルパーチやティラピア等のように淡水域に生息する魚類であっても、通常の淡水魚に比して体内に高い濃度の TMAO を保有するという興味深い事例が報告されている。

本研究では淡水飼育および海水馴化したティラピア (*Oreochromis niloticus*) を用いて TMAO の生合成機構に関して検討し、新たな知見を得た。その主な内容は次に示すとおりである。

まずコリンを含む飼料をティラピアに投与したところ、筋肉中の TMAO 含量が増大することが示された。さらに [1, 2-¹⁴C] および [メチル-¹⁴C] コリンをそれぞれ飼料に添加、投与し、また腹腔内注射したところ、[メチル-¹⁴C] コリンを飼料投与した場合にのみ [¹⁴C]TMAO の生成が確認された。また [¹⁵N] コリンの飼料投与でも [¹⁵N]TMAO が生成した。[¹⁴C]TMA についてはこのような投与の違いに関わらず [¹⁴C]TMAO の生成が観察された。次に単離した腸管に [メチル-¹⁴C] および [¹⁵N] コリンをそれぞれ注入し、これを 27°C で 7 時間加温したところ、ともに [¹⁴C] および [¹⁵N]TMA の生成が観察された。抗生物質によって生成の抑制がおこることから、この合成は微生物の作用によるものであると判断された。また TMA に酸素添加する酵素 (flavin-containing monooxygenase) の活性の組織分布を調べた結果、肝臓および腎臓に特に高い活性が見いだされた。

以上の結果から、腸内微生物がコリンの N-C 結合を解裂してトリメチルアンモニウム基を脱離し、その際に生じた TMA は体内に吸収された後肝臓や腎臓等で TMAO へと酸化され、これが最終的に筋肉に移行・蓄積するものであると推察された。鹿児島県指宿市の河川 (湊川) で捕獲したティラピアの組織成分の分析を試みたところ、筋肉中に TMAO が多量に含まれ、さらに腸内に多量のコリンと少量の TMA が検出された。このことから天然の環境に生息するティラピアについても、上述の生成機構で TMAO が合成・蓄積されているものと考えられる。

また TMAO を単離した腸管に注入し、27°C で 7 時間加温したところ TMA の著しい生成がみられた。従って天然の海産魚でも餌料に含まれる TMAO の少なくとも一部は腸管内で TMA へと還元され、体内に吸収された後で再び TMAO に変換され、これが筋肉に移行・蓄積されるものと思われる。

先に述べたように、腸管内で微生物の作用でコリン分子中の N-C 結合が解裂し、TMA が生成することを示したが、その際に炭素鎖部分からはどのような化合物が生成するのか推測する目的で、[1, 2-¹⁴C] コリンを単離した腸管内に注入し、これを培養し、HPLC-flow counter で分析を試みた。その結果、コリンの消失に伴い新たな二つのピークが出現した。これらはエタノールおよびその酸化体 (アセトアルデヒドおよび酢酸) とほぼ同一の保持時間を有する物質であった。

これらの結果ならびに過去の報告等を考慮すると、ティラピア腸管内におけるコリンからの TMA の生成は次のように

解釈された。すなわち腸内微生物の作用によりコリンの β 炭素の水素が引き抜かれ、N-C結合の解裂と同時にトリメチルアンモニウム基がTMAとして β 脱離し、他方の炭素鎖部分からはビニルアルコールの互変異性体としてのアセトアルデヒドが生成し、これが不均化反応を起こしてエタノールおよび酢酸に変換されるものと推察した。

以上の事実からティラピアの体内にはコリン $\rightarrow$ TMA $\rightarrow$ TMAO および TMAO $\rightarrow$ TMA $\rightarrow$ TMAO という変換経路が存在し、摂餌作用ならびに腸内微生物および魚類の組織酵素の作用によってTMAOが生合成されることが考えられる。

論文審査の結果の要旨

トリメチルアミン(TMA)は海産物の臭気成分としてよく知られている。また、その酸化物であるトリメチルアミンオキシド(TMAO)は魚介類の組織に多量に含まれているにもかかわらず、その起源や生合成経路については必ずしも多くの知見が蓄積されているわけではない。そこで、本論文では淡水飼育および海水馴化したティラピア(*Oreochromis niloticus*)を用いてその体内におけるTMAOの前駆物質、生合成機構などについて検討を加えた。成果として評価すべき点は次の通りである。

1. コリンを添加した飼料を投与したところ、筋肉のTMAO含量が増大した。また、単離した腸管内にコリンを注入するとTMAが生成し、その生成が抗生物質の共存下で抑制された。さらに、 ^{14}C および ^{15}N コリンを用いて *in vivo* トレーサー試験を行い、TMA生成のメカニズムを検討した。その結果、コリンがTMAOの前駆体であり、コリンのN-トリメチル基が腸内微生物の働きでTMAとして脱離し、これが体内でTMAOへと酸化され筋肉に移行・蓄積することをつきとめた。
2. 肝臓および腎臓にTMA酸素添加酵素の活性が見いだされたところから、腸で生成したTMAは体内に吸収された後、主としてこれら臓器においてTMAOに変換されることが明らかとなった。
3. 天然の河川に生息するティラピアの胃および腸の内容物を分析したところコリンが検出され、腸からは少量のTMAも見いだされた。これら内容物には多くの植物プランクトンが認められたところから、天然のティラピアの餌料中にTMAOの前駆物質としてコリンが多く含まれている可能性があることを指摘した。
4. 海水馴化した魚体より単離した腸管にTMAOを注入・加温すると、大部分がTMAへと還元された。従って海産魚では餌の中のTMAOが腸内微生物の作用によってTMAへと還元され、つづいて魚類の組織酵素によりTMAOへと再酸化され筋肉等に移行する可能性があることを明示した。
5. [$1, 2\text{-}^{14}\text{C}$]コリンを腸管に注入したところ、エタノールおよびその酸化生成物(アセトアルデヒドおよび酢酸)と考えられる放射活性をもつ物質が出現した。これはコリンの β 脱離でN-C結合が解裂し、TMAとアセトアルデヒドが生成し、後者がさらに不均化反応によってエタノールおよび酢酸に変化したものであることを示す結果であると推定した。

このように本論文はティラピアにおけるTMAOの生合成とそのメカニズムについて論述したものである。ここで得られた知見は魚介類におけるTMAOの起源や生理的意義の解明に重要な示唆を与えるものであり、水産化学および比較生理生化学の発展に寄与するところが大い。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成14年2月18日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。