

短期および長期的な食餌環境が 血中脂肪酸組成に与える影響について

籠橋 有紀子¹ 大谷 浩²

(1 島根女子短期大学食物教室、2 島根大学医学部解剖学講座)

島根女子短期大学紀要

第 45 号
(9～16頁) 別刷
2007年3月

短期および長期的な食餌環境が 血中脂肪酸組成に与える影響について

籠橋 有紀子¹ 大谷 浩²

(1 島根女子短期大学食物教室、2 島根大学医学部解剖学講座)

The short term and long-term dietary environment affects the blood fatty acid composition.

Yukiko Kagohashi, Hiroki Otani

キーワード：n-3 系多価不飽和脂肪酸、食餌環境、血中脂肪酸、実験動物

1. 目的

必須脂肪酸の中でも n-3 系多価不飽和脂肪酸は、魚油や一部の植物油に含まれ、その補足により、高脂血症 (Harris WS, 1997)、動脈硬化 (Vanschoonbeek K et al., 2003)、糖尿病 (Mori Y et al., 1997) (Sampath H & Ntambi JM: 2004) (籠橋, 2006a) (籠橋, 2006b) などに対するリスクが軽減することが報告され、生活習慣病予防効果に関して注目されている成分である。これらの効果には、n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取による組織や赤血球の細胞膜の脂肪酸組成の変化 (Escudero A et al., 1998)、赤血球細胞膜の粘性の減少 (Demaison L et al., 2002) や変形能の増加 (Hessel E et al., 1990) に伴う血液の流動性や膜輸送能の向上などが関与していると考えられている。しかしながら、n-3 系多価不飽和脂肪酸は、過剰摂取によって生じる出血時間の延長、コレステロールの増加、好中球の減少や機能障害などの副作用も報告されており、アラキドン酸、リノール酸などの n-6 系多価不飽和脂肪酸との摂取バランスが重要であるといわれている (渡邊, 2004)。

疫学調査によると、食事中的 n-6/n-3 比は、古来日本食と欧米食では大きく異なっていたが (Lands WEM et al., 1990)、近年食生活の欧米化に伴い、魚を中心とした日本食文化は乱れ、摂取する n-6/n-3 比は、年々高くなっている。そして、それに伴い、冠動脈疾患 (Vanschoonbeek K et al., 2003)、糖尿病等の疾患発症が増加していることも合わせて報告されている (Mori Y et al., 1997) (Sampath H & Ntambi JM: 2004)。

このように、ヒトあるいは実験動物に対する魚油あるいはエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA)、シソ油あるいは α -リノレン酸 (LnA) を用いた n-3 系多価不飽和脂肪酸の補足効果 (Morgado N et al., 2005) や、疫学調査に関して、様々な検討が行われているが、必ずしも疫学調査の結果と実験動物の結果において、一致した見解が得られていないものもある。

必須脂肪酸の補足効果が一致しない原因の一つとして、摂取期間 (長期および短期の摂取効果) についてのまとまった検討が行われていないことが考え

られる。また、特にヒトの場合においては、摂取形態がヒトの数だけ存在するため、n-3 系多価不飽和脂肪酸を摂取していたとしても、同時に n-6 系多価不飽和脂肪酸も多く摂取しているなどの原因から、実際摂取している n-6/n-3 比としてのバランスは、推奨値とは程遠いなどの問題が生じる可能性は高い。また、n-3 系多価不飽和脂肪酸の中で、シソ油などの植物油に多い LnA は、生体中で鎖長延長および不飽和化を受けて、EPA や DHA への変換が可能である。しかし、この活性はそれほど強くなく、リノレン酸は β 酸化されやすいので、体内の EPA や DHA レベルを上げるためには、直接摂取する必要がある (藤本, 2006)。摂取期間や、摂取バランスを考えた調査研究は、摂食形態が多様化してきた現代においては、解決しなければならない重要な問題である。

近年、n-3 系多価不飽和脂肪酸を摂取する方法として、魚油、サプリメントなどが、加工食品として注目されているが、その摂取量と期間についての記述や、効果については明記されていない。サプリメントは、多様な栄養補助食品の開発により、一種のブームとして安易に受け入れられているが、その多くは機能的な点や摂取期間の長短における効果についての解明が十分ではなく、基本的な点において解明すべき点が多々ある。

機能的食品についての研究は実験動物を用いたものは数多くあるが、各栄養素の吸収、分布、代謝など必要量の個人差や疾患別の検討は少なく、短期的のみならず長期的摂取における実験的成果が必要とされる。また同時に、実験動物における成果を、ヒトに応用するための疫学的・臨床学的な調査の取り組みが、より密接に行われる必要があり、強く望まれている。

本研究では、実験動物における必須脂肪酸の投与期間と体内への吸収率についての検討を行なった。特に、体内で合成できないため、食事から摂取しなければならない必須脂肪酸に着目して、体内への取り込みや吸収率について、短期、長期的両側面において調査・研究を行なうことを目的とした。

2. 方法

1) 実験動物

JC1:ICR マウス雌を使用。日本クレアより購入後、島根大学実験動物施設の規則に基づき、飼育した。動物施設内の温度は $24 \pm 2^\circ\text{C}$ とし、湿度は 60-70% に管理されている。8:00 から 20:00 までは、人工光を点灯した。

2) 食餌摂取と実験デザイン

疫学調査による結果等を参考にし、必須脂肪酸比 (n-6/n-3 比) の異なる 2 種類のマウス用飼料を作成した。欧米食の組成に準じた食餌 (n-6/n-3=14.5: 以下 American とする) と伝統的日本食の組成に準じた食餌 (n-6/n-3=3: 以下 Japanese とする) (Research Diet) を作成した。必須脂肪酸比率以外の構成成分は、タンパク質 (20.3%)、炭水化物 (66%)、脂肪 (5.0%)、カロリー (3.9kcal/g) と 2 種類とも同様に調整した。生後 8 週令より American、Japanese をそれぞれ摂取させ始め、食餌摂取後 1, 2, 4, 6, 25 週間後に深麻酔下で安楽死させた。また、一週間ごとに食餌摂取量、飲水量および体重を計測した。

3) 餌・血液中の脂肪酸測定

マウスを安楽死させた後、血液採取した。血清および血球膜の脂肪酸測定は、one-step 法により脂肪酸を直接メチルエステル化したのち、ガスクロマトグラフ (Hewlett Packard model 5890; Avondale, PA, USA) により分離定量した。一群につき、5 個体採取して計測した。測定した脂肪酸は次の 9 種類である。パルミチン酸 (PLA)、ステアリン酸 (STA)、オレイン酸 (OLA)、リノール酸 (LLA)、LnA、アラキドン酸 (AA)、EPA、ドコサペンタエン酸 (DPA)、DHA。値は、mean \pm SD で示した。

ガスクロマトグラフ分析条件

ガスクロマトグラフ: 横河アナリテカルシステムズ社 5890 シリーズ・

検出器: FID

ワークステーション: 同社製 HP3365 ケミステーション
オートサンプラー: 同社製 HP7673

カラム: J&W 社製 DB-WAX、P/N122-7032 (30 m \times 0.25 mm)

カラム昇温条件: 100°C (1 min) \rightarrow $20^\circ\text{C}/\text{min}$ \rightarrow

180°C → 2°C/min → 240°C (30 min) → 4°C/min → 260°C (5 min)

注入口温度：260°C

検出口温度：260°C

キャリアガス：He (2.0 ml/min)

注入量：1 μl

3. 結果

1) 体重と摂取量

ICR マウスに2種類の食餌を摂取させた後の摂取量、飲水量、体重変化については、American 摂取群と Japanese 摂取群の間に有意な差異は無かった (data not shown)。

2) 血中脂質の変化

1. 血清中脂肪酸の n-6/n-3 比について (図1、図2)

血清中脂肪酸の n-6/n-3 比は、各々の食餌を摂食開始後、徐々に変化した。特別食摂取前は、マウス用通常飼料 (n-6/n-3 = 6.0) を摂取させた。その時の血清中脂肪酸の n-6/n-3 比は、5.0 であった。n-6/n-3 比が 14.5 の特別食に変更後1週間では、n-6/n-3 比は 5.25 にまで上昇した。しかしな

がら、変更後2週間では、n-6/n-3 比は 3.85 まで低下した。この値は、摂取後3週間においてもほぼ同様であった (data not shown)。その後、特別食摂取開始後4週間においては、n-6/n-3 比は 7.9 に上昇し、特別食摂取後25週間においてもこの値は変わらなかった。その後さらに継続して35週令まで American を摂取させたが、n-6/n-3 比 14.5 の値にまでは上昇しなかった。n-6/n-3 比が 3.0 の Japanese を摂取させた群では、変更後1週間では n-6/n-3 比は 5.0 から 4.2 にまで下降したが、変更後2週間で、血清中 n-6/n-3 比が 4.9 にまでいったん上昇した。特別食に変更後4週間では、n-6/n-3 比が 3.2 まで下降し、その値は Japanese に変更後25週間まで、ほぼ同様の値を示した。その後さらに継続して35週令まで Japanese を摂取させたが、血清中 n-6/n-3 比は 3.2-3.4 の値に保たれた。

以上より、血清中 n-6/n-3 比は、各特別食を摂取後4週間より、安定して各々の食餌に含まれる n-6/n-3 比を反映した。その摂取期間が1-2週間の短い期間では、必須脂肪酸比率は少しずつ変化した。

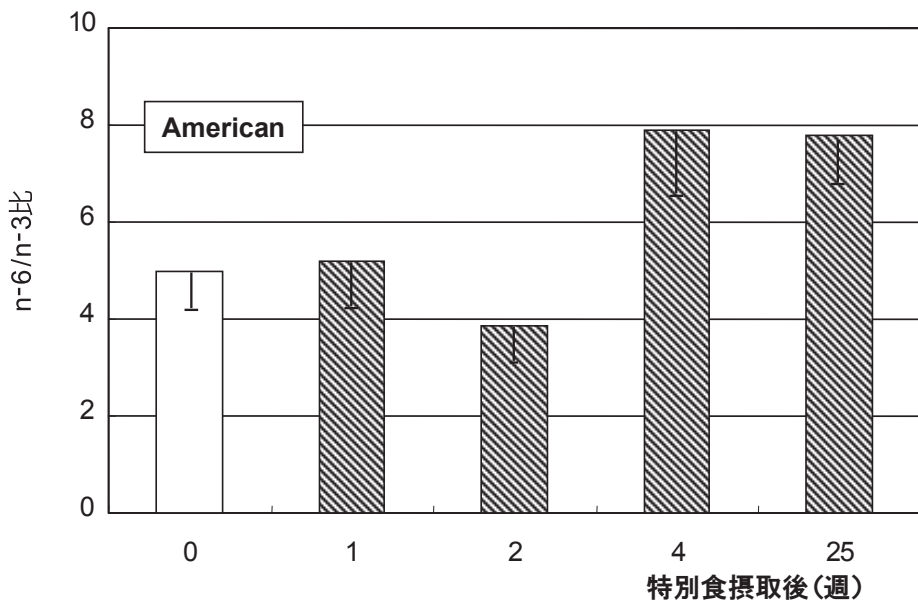


図1. American 摂取マウスの血中脂肪酸 n-6/n-3 比

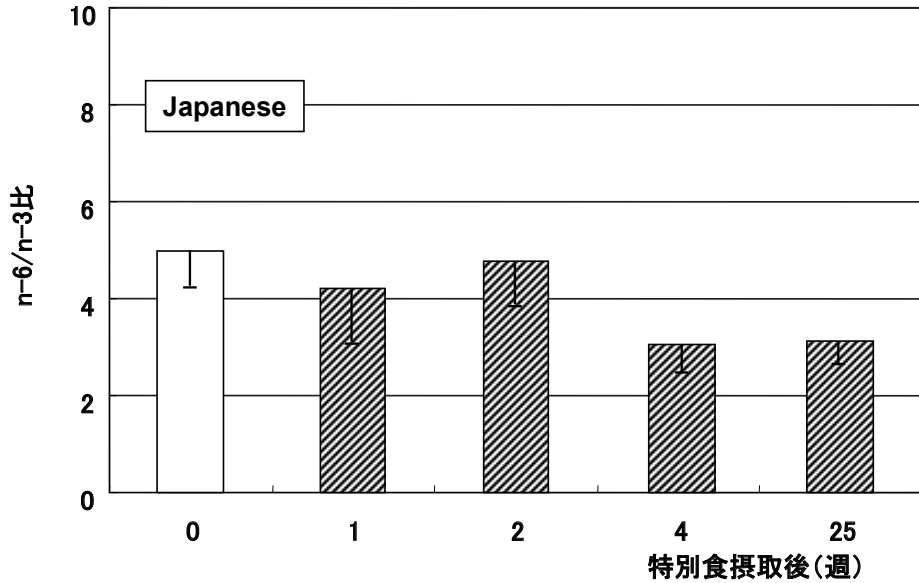


図2. Japanese摂取マウスの血中脂肪酸n-6/n-3比

2. 血清中脂肪酸の個々の動態について(図3、図4)

PLA、STA、OLA、LLA、LnA、AA、EPA、DPA、DHAの9種類の脂肪酸について、摂取期間の長短により血清中の脂質にどのような影響があるのか検討した。各脂肪酸のパターンについては、American摂取群とJapanese摂取群は、両群ともに摂取後1週間までは、ほとんど変化がみられなかった。しかし、摂取後2週間において、両群ともに大きく変化がみられ、n-6/n-3比も変化した。

まず、n-6およびn-3系多価不飽和脂肪酸についてみると、American摂取群では、摂取後2週間において、DHAのわずかな上昇、AAのわずかな低下がみられ、n-6/n-3比も低下した。一方、Japanese摂取群では、DHAのわずかな低下、AAのわずかな上昇がみられ、n-6/n-3比も上昇した。摂取後4週令のAmerican摂取群では、EPA、DHAの低下がみられたことに伴い、n-6/n-3比も著しく上昇した。その傾向は、摂取後25週間でもほぼ同様であった。摂取後4週令のJapanese摂取群では、EPA、DHAの増加がみられたことに伴い、n-6/n-3比も著しく

低下した。その傾向は、摂取後25週間でもほぼ同様であった。Japanese摂取群では、LLAが摂取後2週間以降から、劇的に減少した。

また、PLA、STA、OLAについては、摂取後1週間は、両群ともに変化は少なかったが、摂取後2週間後より、劇的に変化した。American摂取群は、2、4週でPLAおよびSTAの変化が目立った。Japanese摂取群は、OLAの変化が著しく、摂取後4および25週間で最初の約3倍の値(mol%)を示した。

3. 血球脂質の変化について

血球中脂肪酸のn-6/n-3比は、各々の食餌を摂取開始後、徐々に変化し、血清と同様4週間後の値と25週間後の値がほぼ一致した(data not shown)。

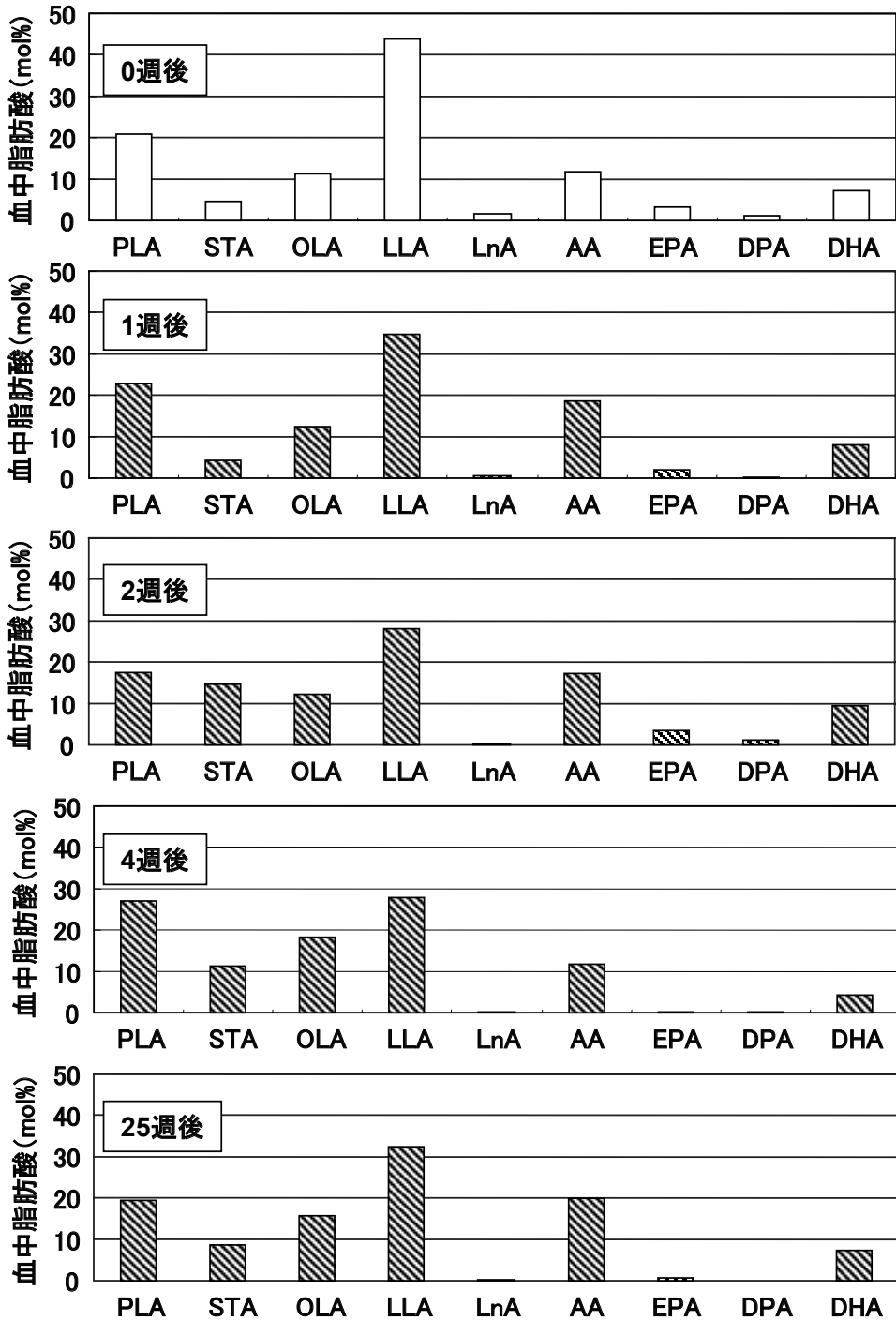


図3. American摂取後のマウス血中脂肪酸の割合

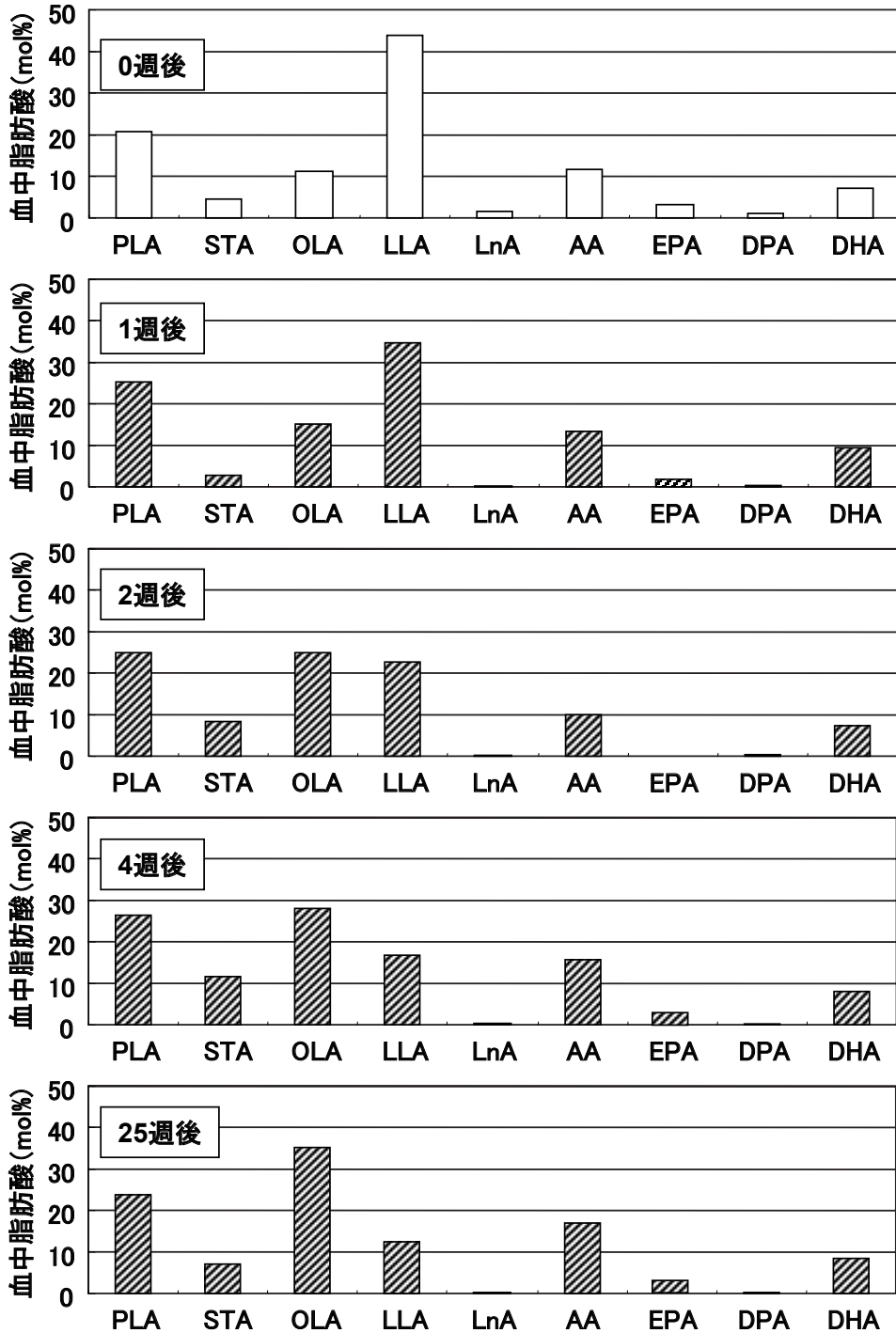


図4. Japanese摂取後のマウス血中脂肪酸の割合

4. 考察

血清中の脂肪酸は、食餌環境を直接的に反映するといわれているが、個々の代謝効率、消化吸収効率によって、その取り込みに要する期間は異なり、個体差もあると考えられる。実際、実験動物においても、疾患モデル動物などの血中脂肪酸は、同じ食餌を摂取させた場合においても、疾患の発症前後、あるいは、疾患別に異なることがわかっている (Kagohashi et al., unpublished data)。

本研究では、実験動物を用いた栄養学実験の基礎的なデータを収集することを目的とし、必須脂肪酸比率に着目して解析を行った。

まず、必須脂肪酸比率の違いにより、摂食量、飲水量および、体重の変化に有意差は生じなかった。また、その他、行動や外的変化も見られなかった。

血清中の n-6/n-3 比は、摂取期間により徐々に変化し、その他の脂肪酸の割合も食餌の差異がそのまま反映され、変化した。N-6/n-3 比は、食餌中の比率を摂取後 1-2 週間においては、いったん食餌を反映するかのような挙動をみせた後、食餌の比率と逆の値を示す時期を、必ず経ることが確認された。血球膜脂質との相関もみられ (Kagohashi et al., unpublished data)、今後更なる検討を要する。特別食摂取後 4 週間では、American, Japanese を摂取した群はともに、血清中の n-6/n-3 比は、食餌中の n-6/n-3 比を反映する値に変化した。しかし、食餌中の比率がそのまま血液中出现することはなく、n-6/n-3 = 14.5 の群の血中脂肪酸比率は 8 前後に、n-6/n-3 = 3.0 の群の血中脂肪酸比率は 3.3 前後の値となった。また、摂取開始後、4 週間で血清中の脂肪酸の値が安定した後、25 週間摂食させた群と比較しても、ほぼ同様の値を示した。この傾向は血球膜でもみられた (data not shown)。以上より、実験動物において、食餌中の必須脂肪酸は、約 4 週間程度の摂取により、血中の必須脂肪酸の比率を安定させることが示唆された。今後、血液以外の他の組織における分布を調べることにより、体内動態についての詳細な作用メカニズムを検討したい。

疾患の原因や予防に関わる食事の栄養成分については、不明な点や未解明な部分が多いため、実験

動物を用いた研究においては、栄養素により、摂食期間の設定に細心の注意を払う必要がある。また、その結果を人への応用するためには、検討する物質の体内動態をふまえた基礎的な研究を積み重ねる必要がある。

機能性食品研究において、医薬品の開発に欠かせない非臨床試験の実施には、多くの種類の実験動物が用いられている。実験動物による結果をもとに、安全性、有効性などの試験を経て、人における臨床試験が行われる。食品中の栄養成分も、過剰摂取および欠乏により、多くの疾患を引き起こすことは、多数報告されている。我々は、本実験において、必須脂肪酸摂取と体内での吸収について、短期、長期的両側面から、実験動物を用いた調査・研究を行なった。今回の結果に引き続き、世代を経た影響についても、検討が必要である。本結果および、今後のモデル動物を用いた栄養と疾患の結果が、ヒトを対象とした臨床研究へ応用され、疾患の予知・予防をめざした実用的で優れた機能性食品の開発の一助となることを期待する。

謝辞

島根県立島根女子短期大学の卒業生である泉利佳氏、ならびに島根大学医学部解剖学講座発生生物学教室の皆様、に、感謝の意を表します。また、本研究は平成 17 年度島根県立島根女子短期大学研究助成による研究の一部である。

引用文献

- Bratman S., Kroll D.: Natural Health Bible 2nd edition. Prima Publishing p282-283. (2000)
- Demaison L & Moreau D.: Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: a possible mechanism of action. Cell Mol. Life Sci., 59, 463-477. (2002)
- Escudero A., Montilla JC., Garcia JM., Sanchez-Quevedo MC., Periago JL., Hortelano P., Suarez MD.: Effect of dietary (n-9), (n-6) and (n-3) fatty acid on membrane lipid composition and morphology of rat erythrocytes. Biochim.

- Biophys. Acta, 1394, 65-73. (1998)
- 藤本健四郎：魚の脂質の特徴と食品機能．日本調理科学会誌 39 (5) , 271-276. (2006)
- Sampath H & Ntambi JM.: Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Nutr Rev.* 62 (9) , 333-339. (2004)
- Harris, WS.: N-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65 (5 Suppl) , 1645S-1654S. (1997)
- Hessel E., Agren JJ., Paulitschke M., Hanninen O., Hanninen A., Lerche D.: Freshwater fish diet affects lipid composition, deformability and aggregation properties of erythrocytes. *Atherosclerosis*, 82, 37-42. (1990)
- 籠橋有紀子、直良博之、森山賢治、大谷浩：1 型糖尿病のハネムーン期を修飾する必須脂肪酸摂取比率について．*脂質生化学研究* 48 巻 147-148, (2006a)
- 籠橋有紀子、直良博之、阿比留教生、古林正和、橋本道男、紫藤治、大谷浩：NOD マウスの糖尿病発症に離乳前の必須脂肪酸摂取比率が及ぼす影響．*Diabetes Frontier* (in press) (2006b)
- Lands WEM, Hamazaki T, Yamazaki K, Okuyama H, Sakai K, Goto Y, Hubbard VS.: Changing dietary patterns. *Am J Clin Nutr* 51, 991-993. (1990)
- Mori Y., Murakawa Y., Katoh S., Hata S., Yokoyama J., Tajima N., Ikeda Y., Nobukata H., Ishikawa T., Shibutani Y.: Influence of highly purified eicosapentaenoic acid ethyl ester on insulin resistance in the Otsuka Long-Evance Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 46, 1458-1464. (1997)
- Morgado N., Rigotti A., Valenzuela A.: Comparative effect of fish oil feeding and other dietary fatty acids on plasma lipoproteins, biliary lipid, and hepatic expression of proteins involved in reverse cholesterol transport in the rat. *Ann Nutr Metab*, 49, 397-406. (2005)
- Vanschoonbeek K., Maat MPM, Heemskerk JWM.: Fish oil consumption and reduction of arterial disease. *J. Nutri.*, 133, 657-660. (2003)
- 渡邊洋宇：水産物の多面的機能—国民の健康増進と医薬品の開発．*学術の動向* 2004. 9. 36-40 (2004)

(平成 18 年 11 月 30 日受理)