

実験1) 加齢ラットの空間認知機能に及ぼすアラキドン酸長期投与の影響に関する研究

担当協力研究者：井上隆之、田邊洋子

A. 研究目的

脳内の代表的な n-6 系脂肪酸であるアラキドン酸 (ARA) は総脂肪酸の約 10% を占め、少量では ARA カスケードを介して生成される生理活性物質が正常な脳機能を営む上で重要な役割を果たしていることがよく知られている。しかしながら、長期的に給与された ARA による脳機能への影響についてはほとんど報告されていない。ARA による老齢ラット認知機能への影響を検証した。

B. 研究方法

B-1. 加齢ラットと ARA 投与

F-1 魚粉抜き固形飼料 (フナバシファーム、船橋市) で 2 世代飼育した加齢 Wistar 系雄ラット (21 カ月齢) を、ARA (240 mg/kg BW/day) と対照基礎混合油 (牛脂:大豆油:菜種油 = 2:1:1) を其々経口投与する ARA 群 (n=15) とコントロール群 (n=15) との 2 群に分け、投与期間中に放射状迷路法により各ラットの空間認知機能を評価した。総投与期間は 13 週間である。

表 1 には投与した ARA 豊富油と対照基礎混合油の脂肪酸組成が示されている。ARA 豊富油は CABIO 社 (中国) から輸入され、ARA 豊富油は対照基礎混合油に比べて、ARA が多く、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸が少ない組成である。

表 1 給油脂肪酸組成

	アラキドン酸油	対照基礎混合油
PLA(mol%)	6.95±0.00	13.8±0.01
STA(mol%)	5.91±0.00	13.8±0.01
OLA(mol%)	5.31±0.00	42.5±0.03
LA(mol%)	9.38±0.01	20.0±0.02
ARA(mol%)	45.1±0.04	ND
EPA(mol%)	0.52±0.00	0.13±0.01
DPA(mol%)	ND	ND
DHA(mol%)	ND	ND

B-2. 空間認知機能評価法

ARA 群とコントロール群のラットを其々 10 匹から行動実験を開始した。評価法としては 8 走路放射状迷路法を用い、投与開始 6 週間後から給餌制限 (平均体重の 77.4%) を行い、2 週間の馴化期間の後に 8 走路のうちの 4 走路に報酬餌を置き、評価を行った。このとき、放射状迷路法で得られる評価項目としては、Total Time (TT: 摂取所要時間)、Reference Memory Error (RME: 参照記憶エラー) ならびに Working Memory Error (WME: 作業記憶エラー) があり、RME は長期記憶、WME は短期記憶の指標としてそれぞれ扱われている。

B-3. 血液生化学一般検査項目測定法

- 1) 血液生化学一般検査項目: 医療法人仁寿会加藤病院に検査を依頼。主に酵素法により測定。
- 2) 血漿と脳の脂肪酸測定: ガスクロマトグラフ法

C. 研究結果

C-1. 体重と血液生化学一般検査項目への影響
・体重には 2 群間で有意差は認められなかった。

・ARA 群ではコントロール群に比べて、血漿の総コレステロールは増加傾向が認められ (P=0.055)、HDL コレステロールと LDL コレステロールは有意に増加した (P<0.05) (表 2)。その他の測定項目 (GOT、GTP、 γ -GTP、アルブミン、中性脂肪、血液尿素窒素、クレアチニン、ならびに空腹時血糖) には ARA 投与の影響は認められなかった。

表2 体重・血液生化学一般検査項目

	Control群 (n=15)	ARA群 (n=15)
体重(g)	422±10	457±10
GOT(IU/L)	93.7±7.1	96.6±8.8
GTP(IU/L)	52.3±4.3	52.8±4.1
γ-GTP(IU/L)	1.9±0.2	1.6±0.2
ALB(mg/dL)	2.7±0.0	2.8±0.1
Total-C(mg/dL)	105.8±5.8	120.2±4.4*
TG(mg/dL)	61.6±9.8	63.1±8.6
BUN(mg/dL)	17.2±0.6	18.4±0.6
CRE(mg/dL)	0.30±0.0	0.33±0.0*
BS(mg/dL)	128.9±4.6	140.2±7.3
HDL-C(mg/dL)	60.1±2.7	69.6±2.6**
LDL-C(mg/dL)	30.1±1.6	35.9±2.1**

数値は平均値±標準誤差で表している。

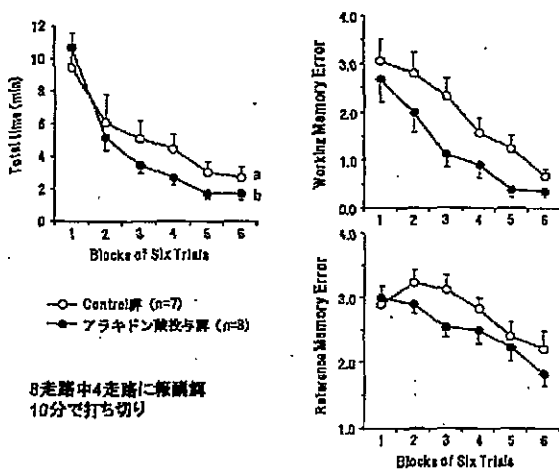
*0.05<P<0.1, **P<0.05.

C-2. 空間認知機能への影響 (図1)

・参照記憶、作業記憶は、群間とブロック間でそれぞれ有意差はあるものの、相互作用には有意差が認められなかった。

・ARA投与ラットではコントロールラットに比べて摂取所要時間が有意に低値を示した(p=0.0011)。

図1 空間認知機能に及ぼす影響



C-3. 血漿の脂肪酸組成への影響

ARA群はコントロール群にくらべて、ARAとn-6/n-3比、ならびに脂肪酸不飽和度(USI)が有意に増加し、パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸、エイコサペンタエン酸が有意に低下した(P<0.05)(表3)。

表3 血漿脂肪酸組成

	Control群(n=7)	ARA群(n=8)
PLA(mol%)	24.3±0.5	22.7±0.3*
STA(mol%)	14.2±0.2	14.6±0.3
OLA(mol%)	10.3±0.6	8.6±0.5*
LA(mol%)	18.0±1.0	14.0±0.7*
ARA(mol%)	28.6±1.6	36.7±1.3*
EPA(mol%)	0.71±0.1	0.35±0.1*
DPA(mol%)	0.53±0.0	0.44±0.1
DHA(mol%)	1.78±0.2	1.27±0.2
n-6/n-3	15.5±2.4	24.6±2.7*
USI	179.1±3.6	195.8±2.8*

数値は平均値±標準誤差で表している。*P<0.05

C-4. 大脳皮質・海馬の脂肪酸組成への影響

ARA群はコントロール群にくらべて、大脳皮質と海馬では、ともにリノール酸が有意に減少した。ARAは大脳皮質のみ有意に増加した(P<0.05)(表4、5)。海馬ではn-6/n-3比は有意に増加し、DHA/ARA比が有意に減少した(表5)。大脳皮質では有意差は認められないものの、海馬と同様に、n-6/n-3比は増加し、DHA/ARA比が減少する傾向が認められた(0.05<P<0.1)(表4)。

表4 大脳皮質の脂肪酸組成

	Control群(n=7)	ARA群(n=8)
PLA(mol%)	26.6±0.47	27.0±0.30
STA(mol%)	27.7±0.29	28.0±0.12
OLA(mol%)	19.0±0.71	18.1±0.51
LA(mol%)	0.80±0.05	0.58±0.05**
ARA(mol%)	11.6±0.37	12.7±0.35**
EPA(mol%)	0.07±0.01	0.06±0.00
DPA(mol%)	0.11±0.01	0.09±0.01
C24:0(mol%)	0.41±0.07	0.35±0.05
DHA(mol%)	13.0±0.45	12.5±0.20
C24:1(mol%)	0.70±0.13	0.60±0.07
n-6/n-3	0.94±0.05	1.06±0.04*
DHA/ARA	1.13±0.06	0.99±0.04*
USI	146.8±2.1	146.4±0.7

数値は平均値±標準誤差で表している。

*0.05<P<0.1, **P<0.05

表5 海馬の脂肪酸組成

	Control群(n=7)	ARA群(n=8)
PLA(mol%)	25.4±0.34	25.3±0.22
STA(mol%)	26.5±0.14	26.4±0.33
OLA(mol%)	20.9±0.46	20.2±0.39
LA(mol%)	0.63±0.04	0.48±0.02**
ARA(mol%)	12.8±0.20	13.2±0.18
EPA(mol%)	0.09±0.00	0.08±0.01
DPA(mol%)	0.12±0.01	0.11±0.01
C24:0(mol%)	0.66±0.07	0.67±0.04
DHA(mol%)	11.8±0.20	11.4±0.19
C24:1(mol%)	1.06±0.13	1.03±0.08
n-6/n-3	1.11±0.02	1.18±0.02**
DHA/ARA	0.93±0.02	0.86±0.01**
USI	146.5±1.2	145.7±1.0

数値は平均値±標準誤差で表している。 **P<0.05

D. 考察

脳内の代表的な n-6 系脂肪酸である ARA は総脂肪酸の約 10% を占め、DHA と同様に主要な細胞膜構成脂肪酸である。ホスホリパーゼ A2 により細胞膜から遊離された ARA は、ARA カスケードを介して各種エイコサノイドとなるが、少量のエイコサノイドは正常な脳機能を営む上では重要な役割を果たしていることがよく知られている。しかしながら、長期的に給与された外因性 ARA による脳機能への影響についてはほとんど未解決のままである。本研究では、空間認知機能に及ぼす ARA 長期投与の影響について検討が行われた。

体重、血液の肝・腎機能指数、ならびに空腹時血糖には ARA 投与による影響が認められなかったことから、13 週間の投与により毒性などは認められない事が示唆された。

本実験で使用した ARA 豊富油と対照基準混合油の脂肪酸組成を比べた場合、ARA 豊富油では ARA が 40% 増加する代わりに、オレイン酸とリノール酸がそれぞれ極端に低下している(表1)。摂取する餌中のリノール酸の増加は血中総コレステロールを減らすことが報告されていることから、ARA 投与ラットで観察された血漿の総コレステロールや HDL・LDL コレステロールの増加の原因の一つとして、ARA 豊富飼料中の低リノール酸含有量の低下が示唆される。

本研究はまだ中途であり、血漿・脳内の各種生理活性物質と ARA 摂取との関連性について検討を行っていない。高齢ラットでは、ARA の長期投与により学習・記憶機能には影響が認められなかった。しかし、報酬餌を摂取するために要する時間(摂取所要時間)は ARA 投与により有意に低下した。神経細胞膜に増加した ARA はリパーゼ A2 により遊離型となり、ARA カスケード由来各種エイコサノイドが産生される。これらのエイコサノイドが神経細胞の可塑性などに作用する可能性があり、今後の検討が待たれる。

E. 結論

ARA 投与により、血漿 ARA 組成の増加と共に、大脳皮質の ARA は増加し、海馬の DHA/ARA 比が低下した。これらの変化は、ARA 投与ラットでの摂取所要時間の短縮に影響を及ぼす可能性があり、今後の検討課題である。

実験2) ラット網膜の機能と脂肪酸組成に及ぼすアラキドン酸長期投与の影響に関する研究

担当協力研究者：谷戸正樹、海津幸子、片倉賢紀、井上隆之、田邊洋子

A. 研究目的

網膜に光が当たることによって生じる網膜光障害の原因の一つは酸化ストレスである。網膜には不飽和脂肪酸が多く含まれるので、他の組織と比較して酸化ストレスを受けやすく、Hydroxynonenal (HNE) や Hydroxyhexenal (HHE) などの脂質過酸化物質 (アルデヒド) が多く生成されている。その一方で、不飽和脂肪酸であるARA やドコサヘキサエン酸 (DHA) が必須脂肪酸としてサプリメントや食品添加物に使用されている現実がある。しかしながらARA長期投与の影響はほとんど報告されていない。

最近、ARAを過剰摂取したマウス雌胎仔の眼の発達異常が報告されたことから、ARAの長期投与ラットの網膜機能への影響が示唆される。しかしながら、ARAやDHAを長期摂取した場合、網膜機能に如何なる影響が出るかについては報告がない。本研究では、長期に渡って経口摂取したARAとDHAがどの程度網膜に移行するのか、そして網膜機能に如何なる影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

B-1. ラットとARA投与

F-1 魚粉抜き固形飼料 (フナバシファーム、船橋市) で2世代飼育した若齢Wistar系雄ラット (5週齢) を、ARA中性脂肪型 (240 mg/kg BW/day) とDHA中性脂肪型 (240 mg/kg BW/day) ならびに対照基礎混合油 (牛脂:大豆油:菜種油 = 2:1:1) をそれぞれ経口投与するARA群 (n=10)、DHA群 (n=10)、コントロール群 (n=10) の3群に分け、網膜機能への影響が観察されるまで、3カ月毎に網膜電図を測定する。

表1には投与したARA豊富油と対照基礎混合油ならびにDHA豊富油の脂肪酸組成が示されている。ARA豊富油はCABIO社 (中国) から輸入され、ARA豊富油は対照基礎混合油に比べて、ARAが多く、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 (LA) が少ない組成である。DHA豊富油はマルハニチロフオールディングス中央研究所から提供された。対照混合油に比べて、DHA、PLA、EPAが多く、STA、LA、が少ない組成である。

表1 給油脂肪酸組成

	ARA油	対照基礎混合油	DHA豊富油
PLA(mol%)	6.95±0.00	13.8±0.01	29.8±0.03
STA(mol%)	5.91±0.00	13.8±0.01	8.10±0.04
OLA(mol%)	5.31±0.00	42.5±0.03	16.3±0.01
LA(mol%)	9.38±0.01	20.0±0.02	1.96±0.01
ARA(mol%)	45.1±0.04	ND	2.49±0.02
EPA(mol%)	0.52±0.00	0.13±0.01	6.61±0.00
DPA(mol%)	ND	ND	1.17±0.01
DHA(mol%)	ND	ND	32.6±0.03

B-2. 網膜電図測定法

網膜電図の測定は谷戸らの論文 (J. Lipid Res. 2009, 50: 807-819) に従って行った。暗順応させたラットをケタミン (120 mg/kg BW) およびキシラジン (6 mg/kg BW) 混合液の筋肉内注射で麻酔した後、0.5% トロピカミドおよび0.5% ペニレフリン塩酸塩 (参天製薬株式会社) を点眼して散瞳した。角膜にLED電極を接触させ、10,000 cad/cm²、5 msの光刺激を与えて網膜電図の測定を行った (使用した装置、LS-W; Mayo corporation)。

B-3. 網膜の脂肪酸組成と酸化ストレスの測定

網膜電図に有意差が認められたのちにラットを屠殺し、網膜を剥離し、網膜と色素上皮の脂肪酸組成と酸化ストレス指標である

Hydroxynonenal (HNE) や Hydroxyhexenal (HHE) などの脂質過酸化物を測定する。

C. 途中成果

ARAによる体重への影響は認められなかった (図1)。

ARAの投与前、投与1カ月後の網膜電図は3群間において有意差は認められなかった。3カ月後の網膜電図は、コントロール群、DHA群共に加齢に伴い振幅の低下が認められたが、ARA群では右目だけではあるが振幅の低下が抑制された (図2)。網膜電図への影響を明らかにするためにさらなる投与を継続中である。

図1 体重変化

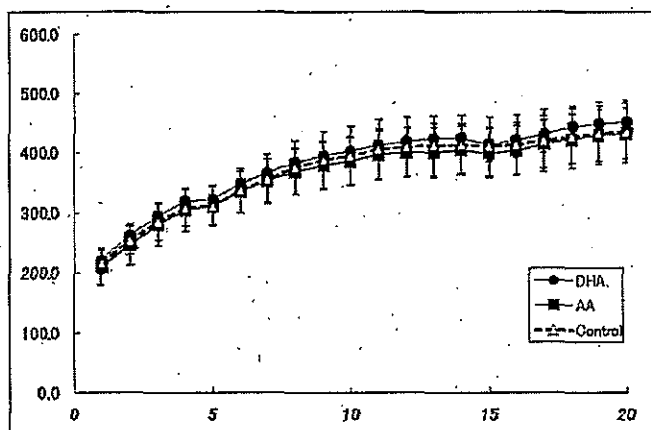
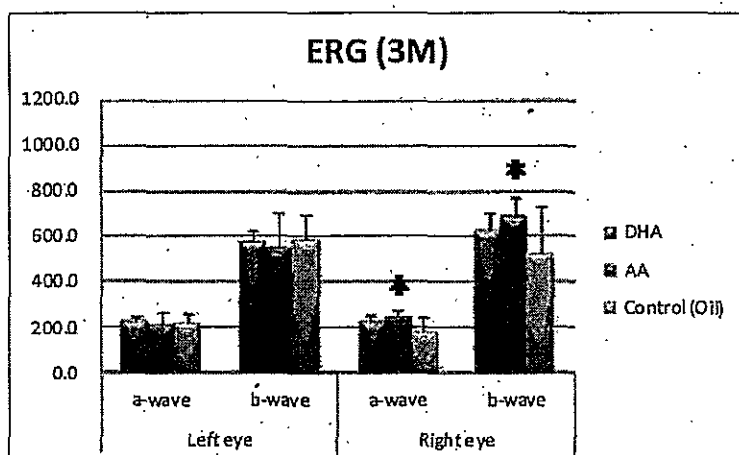


図2 投与3カ月度の網膜電図



実験3) ラットのNK細胞活性に及ぼすアラキドン酸長期投与の影響

担当協力者：十萬佐知子、三木和博、片倉賢紀、井上隆之、田邊洋子

B-1. ラットとARA投与

実験2)と同様に、F-1魚粉抜き固形飼料で2世代飼育した若齢Wistar系雄ラット(5週齢)を、ARA中性脂肪型(240 mg/kg BW/day)とDHA中性脂肪型(240 mg/kg BW/day)ならびに対照基礎混合油(牛脂：大豆油：菜種油=2：1：1)をそれぞれ経口投与するARA群(n=6)、DHA群(n=6)、コントロール群(n=6)の3群に分け、13週間にわたる投与終了後にNK細胞活性を測定した。

B-2. NK細胞活性の測定

ラットから脾臓を摘出した後、単一細胞になるようにすりつぶし、リンパ球精製試薬(Lympholyte-Rat; Cedarlane社)を用いて、

リンパ球層を回収した。リンパ球とマウスリンパ腫由来細胞(YAC-1)の割合を変えて24時間共培養し、24時間後にリンパ球中のNK細胞によって傷害されたYAC-1から放出されたLDHを測定することで、細胞傷害を検討した。

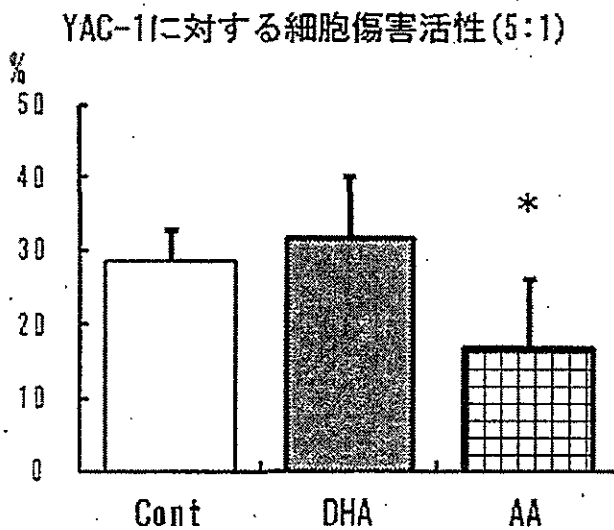
細胞傷害率の算出：

$$\frac{[(\text{リンパ球} + \text{YAC-1}) \text{ 吸光度} - \text{リンパ球のみの吸光度} - \text{YAC-1のみの吸光度}]}{[(\text{YAC-1} + \text{TritonX-100}) \text{ 吸光度} (\text{YACの100\%死}) - \text{YAC-1のみの吸光度}]} \times 100$$

C 結果

ARA投与ラットのNK細胞活性は、コントロール群、DHA群に比べて有意に低下した(図1)。

図1 NK細胞活性



目下、血漿の炎症マーカーを測定中である。

実験4) 加齢ラットの骨格筋に及ぼすアラキドン酸長期投与の影響に関する研究

担当協力者：井上隆之、片倉賢紀、田邊洋子

A. 研究目的

加齢に伴う骨格筋、とりわけ速筋の萎縮が身体活動を低下させることが報告されている。この萎縮の要因は不明であるが、加齢に伴う骨格筋への酸化ストレスの増加も要因の一つとして推察される。そのために、ARA を長期投与した老齢ラットの下腿骨格筋の脂肪酸組成と酸化ストレス指標を測定した。

B. 研究方法

B-1. ラットと ARA 投与：

F-1 魚粉抜き固形飼料（フナバシファーム、船橋市）で2世代飼育した加齢 Wistar 系雄ラット（21 ヲ月齢）を、ARA 中性脂肪型（240 mg/kg BW/day）と対照基礎混合油（牛脂：大豆油：菜種油 = 2：1：1）をそれぞれ経口投与する ARA 群（n=6）、コントロール群（n=6）の2群に分け、13 週間にわたる経口投与後に屠殺して下腿骨格筋中の速筋と遅筋を摘出した。ARA 豊富油と対照基礎混合油の脂肪酸組成は平成 22 年度報告書と同一である。

B-2. 脂肪酸と過酸化脂質：

- 1) 脂肪酸測定：ガスクロマトグラフ法
- 2) 過酸化脂質は大川法
- 3) 活性酸素種（ROS）は dichlorofluorescein diacetate 法

C. 結果

C-1. 体重と血漿脂肪酸・過酸化脂質への影響
・体重は両群間で有意な変化が認められなかった。

・血漿の脂肪酸組成：ARA 投与ラットではコントロールラットに比べて、ARA と不飽和度指数（USI）は増加し、n-6/n-3 比は増加傾向を示した。一方、パルミチン酸、リノール酸、およびエイコサペンタエン酸（EPA）は有意に低下した（表2）。過酸化脂質量（LPO）は ARA 群ではコントロール群に比べて有意に増加した（表1）。

表1 血漿の脂肪酸組成と過酸化脂質

	Control group (n=6)	AA group (n=6)
PLA(mol%)	24.3±0.5	22.7±0.5**
STA(mol%)	14.1±0.3	14.6±0.4
OLA(mol%)	10.2±0.7	8.7±0.6
LA(mol%)	18.1±1.2	14.2±0.9**
ARA(mol%)	28.7±1.9	36.3±1.7**
EPA(mol%)	0.69±0.1	0.36±0.1**
DPA(mol%)	0.51±0.1	0.44±0.1
DHA(mol%)	1.79±0.3	1.33±0.2
n-6/n-3	15.9±2.8	24.1±3.6*
USI	179.5±4.3	195.3±3.8**
LPO (nmol/mL)	9.4±0.6	13.7±0.7**

Data are the mean±SEM. **P < 0.05, *0.05 < P < 0.1

C-2. 下腿骨格筋の脂肪酸・過酸化脂質および活性酸素種への影響

ARA 投与老齢ラットの下腿骨格筋の速筋の ARA が有意に増加し、リノール酸と DHA/ARA 比が低下した。また速筋の活性酸素種 (ROS) が増加した。一方、遅筋の ARA 量に

は変化が認められなかったが、DHA と DHA/ARA 比は有意に低下し、過酸化脂質量 (LPO) が増加した (表 2)。

目下、組織学的に形態変化など観察中である。

表 2 骨格筋の遅筋と速筋の脂肪酸組成と過酸化脂質 (LPO) と活性酸素種 (ROS)

	Slow twitch muscle		Fast twitch muscle	
	Control group (n=6)	AA group (n=6)	Control group (n=6)	AA group (n=6)
PLA(mol%)	19.4±0.96	21.31±0.68	26.30±0.67	27.50±0.55
STA(mol%)	18.38±1.28	16.15±1.67	13.68±0.59	14.12±0.38
OLA(mol%)	12.54±2.32	15.87±2.54	12.31±0.91	10.23±0.57*
LA(mol%)	27.36±0.53	24.54±1.45*	25.61±0.50	20.30±0.79**
ARA(mol%)	15.16±1.44	17.07±2.26	11.63±0.64	18.40±0.71**
EPA(mol%)	0.10±0.00	0.08±0.01	0.10±0.00	0.09±0.02
DPA(mol%)	1.19±0.13	0.93±0.15	1.43±0.06	1.48±0.03
C24:0(mol%)	0.33±0.04	0.32±0.03	0.28±0.04	0.31±0.02
DHA(mol%)	5.20±0.54	3.39±0.50**	8.31±0.81	7.34±0.38
C24:1(mol%)	0.13±0.02	0.08±0.01**	0.10±0.02	0.09±0.01
n-6/n-3	6.61±0.57	9.46±0.91**	3.80±0.28	4.31±0.19
DHA/ARA	0.35±0.02	0.20±0.01**	0.71±0.04	0.40±0.01**
USI	166.3±6.6	159.5±7.1	168.4±5.4	145.7±1.0
LPO (nmol/mg protein)	1.37±0.21	2.83±0.57**	3.44±0.84	3.99±0.19
ROS (nmol/min·mg protein)	3.88±0.49	4.52±1.52	2.84±0.71	5.86±0.68**

Data are the mean±SEM. **P < 0.05, *0.05 < P < 0.1

D. 結語

加齢ラットへの ARA の長期投与は骨格筋の速筋の ROS と遅筋の LPO を増加させることから、ARA 長期投与ラットでは下腿骨格筋の酸化ストレスが増大することが示唆された。酸化

ストレスの増大は細胞膜障害をひき起こすことが推察されることから、ARA の長期摂取は運動機能を低下させる可能性が示唆される。

目下、速筋と遅筋への ARA 長期投与の形態学的影響を検討中である。

E. 研究発表

直接関係した業績は学会発表予定のみである。

学会発表

1) Michio Hashimoto, Takayuki Inoue, Yoko Tanabe, Abdullah Al Mamun, Masanori Katakura, Kentaro Matsuzaki, Osamu Shido. Effects of long-term administration of arachidonic acid on spatial cognition in aged rats. 10th Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and

Lipids. Vancouver, Canada, May 26-30, 2012.

2) Takayuki Inoue, Michio Hashimoto, Yoko Tanabe, Toshiko Hara, Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura, Hiroshi Ohtani and Osamu Shido. Influence of chronic administration of arachidonic acid on skeletal muscle lipids in aged rats. 10th Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. Vancouver, Canada, May 26-30, 2012.

以下には、間接的に関連した内容を掲載する。

学術論文

- 1) Yukiko Kagohashi, N Abiru, M Kobayashi, Michio Hashimoto, Osamu Shido, Hiroshi Otani. Maternal dietary n-6/n-3 fatty acid ratio affects type 1 diabetes development in the offspring of NOD mice. *Congenit Anom (Kyoto)* 50: 212-220, 2010.
 - 2) Shuji Gamoh, Michio Hashimoto, Kenichi Yanagimoto, Masanori Katakura, Haque Md Abdul, and Osamu Shido. Krill-derived phospholipids rich in n-3 fatty acid improve spatial memory in adult rats. *Journal of Agricultural Science* 3: 3-12, 2011.
 - 3) Michio Hashimoto, Hossain Md Shahdat. Beneficial effect of docosahexaenoic acid on cognitive decline in Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacological Science, Review* 116:150-162, 2011.
 - 4) 橋本道男 多価不飽和脂肪酸と脳機能 *Food Style* 21 14(9), 30-34, 2010.
 - 5) Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Shahdat Hossain, Azizur Rahman, Toshio Shimada, Osamu Shido. Docosahexaenoic acid withstands the A β ₂₅₋₃₅-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells. *Journal of Nutrition Biochemistry* 22: 22-29, 2011
 - 6) Michio Hashimoto, Ryuichi Tozawa, Masanori Katakura, Hossain Shahdat, Abdul Md. Haque, Yoko Tanabe, Shuji Gamoh, Osamu Shido. Protective effects of prescription n-3 fatty acids against impairment of spatial cognitive learning ability in amyloid β -infused rats. *Food and Function* 2: 386-394, 2011.
 - 7) Toshiyuki Okui, Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Osamu Shido. Cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid promotes neuronal differentiation through regulation of Hes6 mRNA and cell cycle in cultured neural stem cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 85: 163-169, 2011.
 - 8) Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Toru Nabika, Yoko Tanabe, Shahdat Hossain, Satoru Tsuchikura, Osamu Shido. Effects of hydrogen-rich water on abnormalities in SHR.Cg-Lepr^{cp}/NDmcr rat-a metabolic syndrome model rat. *Medical Gas Research* 2011 in press
 - 9) Seisho Tobinaga, Michio Hashimoto, Iku Utsunomiya, Kyoji Taguchi, Morihiko Nakamura, Tokugoro Tsunematsu. Chronic administration of cardanol (Ginkgol) extracted from *Ginkgo biloba* leaves and cashew nutshell liquid improves reference memory-related learning in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2011 in press
 - 10) Kunitsugu I, Okuda M, Murakami N, Hashimoto M, Yamanishi R, Bando N, Sasaki S, Terao J, Sugiyama S, Hobara T. Self-reported seafood intake and atopy in Japanese school-aged children. *Pediatrics International* 2011 in press
 - 11) 蒲生修治、橋本道男 認知症予防に向けた食生活の工夫およびサプリメントの活用. *老年医学* 49 (6)、683-687、2011.
 - 12) 橋本道男 アミロイド β タンパク質の脳室内注入アルツハイマー病モデル動物. *日本臨床 増刊号 認知症学* 上、241-246、2011
 - 13) 橋本道男 イチョウ葉エキス・魚油・その他の代替医療. *日本臨床 増刊号 認知症学* 下、70-76、2011
- #### 著書
- 1) Michio Hashimoto, Hossain Md Shahdat, Masanori Katakura. Docosahexaenoic Acid and Cognitive Dysfunction. In: *Handbook of Behavior, Diet and Nutrition*, Editor: V. R. Preedy, Springer, New York, 2011 (in press)
 - 2) Shahdat Hossain and Michio Hashimoto.

Mechanism of neurotoxicity of amyloid-beta peptide and the protective effects of docosahexaenoic acid. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2011 in press

3) 橋本道男 ドコサヘキサエン酸によるアルツハイマー型認知症の予防、アンチエイジングをめざした水産物の利用、日本水産学会監修 水産学シリーズ 171、恒星社厚生、pp61

- 73、2011

4) Michio Hashimoto, Haque Md Abdul, Yukihiro Hara. Effects of green tea catechins on cognitive learning ability and dementia. In: Tea in Health and Disease Prevention, Editor: V. R. Preedy, Springer, New York, 2011 (in press)

以下には、間接的に関連した内容を掲載する。

学術論文

- 1) Yukiko Kagohashi, N Abiru, M Kobayashi, Michio Hashimoto, Osamu Shido, Hiroshi Otani. Maternal dietary n-6/n-3 fatty acid ratio affects type 1 diabetes development in the offspring of NOD mice. *Congenit Anom (Kyoto)* 50: 212-220, 2010.
- 2) Shuji Gamoh, Michio Hashimoto, Kenichi Yanagimoto, Masanori Katakura, Haque Md Abdul, and Osamu Shido. Krill-derived phospholipids rich in n-3 fatty acid improve spatial memory in adult rats. *Journal of Agricultural Science* 3: 3-12, 2011.
- 3) Michio Hashimoto, Hossain Md Shahdat. Beneficial effect of docosahexaenoic acid on cognitive decline in Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacological Science, Review* 116:150-162, 2011.
- 4) 橋本道男 多価不飽和脂肪酸と脳機能 *Food Style* 21 14(9), 30-34, 2010.
- 5) Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Shahdat Hossain, Azizur Rahman, Toshio Shimada, Osamu Shido. Docosahexaenoic acid withstands the $A\beta_{25-35}$ -induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells. *Journal of Nutrition Biochemistry* 22: 22-29, 2011
- 6) Michio Hashimoto, Ryuichi Tozawa, Masanori Katakura, Hossain Shahdat, Abdul Md. Haque, Yoko Tanabe, Shuji Gamoh, Osamu Shido. Protective effects of prescription n-3 fatty acids against impairment of spatial cognitive learning ability in amyloid β -infused rats. *Food and Function* 2: 386-394, 2011.
- 7) Toshiyuki Okui, Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Osamu Shido. Cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid promotes neuronal differentiation through regulation of Hes6 mRNA and cell cycle in cultured neural stem cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 85: 163-169, 2011.
- 8) Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Toru Nabika, Yoko Tanabe, Shahdat Hossain, Satoru Tsuchikura, Osamu Shido. Effects of hydrogen-rich water on abnormalities in SHR.Cg-*Lepr^{cp}*/NDmcr rat-a metabolic syndrome model rat. *Medical Gas Research* 2011 in press
- 9) Seisho Tobinaga, Michio Hashimoto, Iku Utsunomiya, Kyoji Taguchi, Morihiko Nakamura, Tokugoro Tsunematsu. Chronic administration of cardanol (Ginkgol) extracted from *Ginkgo biloba* leaves and cashew nutshell liquid improves reference memory-related learning in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2011 in press
- 10) Kunitsugu I, Okuda M, Murakami N, Hashimoto M, Yamanishi R, Bando N, Sasaki S, Terao J, Sugiyama S, Hobara T. Self-reported seafood intake and atopy in Japanese school-aged children. *Pediatrics International* 2011 in press
- 11) 蒲生修治、橋本道男 認知症予防に向けた食生活の工夫およびサプリメントの活用. *老年医学* 49 (6)、683-687、2011.
- 12) 橋本道男 アミロイド β タンパク質の脳室内注入アルツハイマー病モデル動物. *日本臨床増刊号 認知症学* 上、241-246、2011
- 13) 橋本道男 イチョウ葉エキス・魚油・その他の代替医療. *日本臨床 増刊号 認知症学* 下、70-76、2011

著書

- 1) Michio Hashimoto, Hossain Md Shahdat, Masanori Katakura. Docosahexaenoic Acid and Cognitive Dysfunction. In: *Handbook of Behavior, Diet and Nutrition*, Editor: V. R. Preedy, Springer, New York, 2011 (in press)
- 2) Shahdat Hossain and Michio Hashimoto.

Mechanism of neurotoxicity of amyloid-beta peptide and the protective effects of docosahexaenoic acid. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2011 in press

3) 橋本道男 ドコサヘキサエン酸によるアルツハイマー型認知症の予防、アンチエイジングをめざした水産物の利用、日本水産学会監修 水産学シリーズ 171、恒星社厚生、pp61

- 73, 2011

4) Michio Hashimoto, Haque Md Abdul, Yukihiro Hara. Effects of green tea catechins on cognitive learning ability and dementia. In: Tea in Health and Disease Prevention, Editor: V. R. Preedy, Springer, New York, 2011 (in press)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業） 総合研究報告書

「老若マウスの脳機能に及ぼすアラキドン酸の比較検討」

研究分担者 守口 徹 麻布大学 生命・環境科学部 教授

研究要旨

n-3系脂肪酸欠乏ならびにn-3系脂肪酸正常飼料で、飼育・繁殖した老齢(52週齢)と若齢(16週齢)マウスを用いて、n-6系多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸(ARA)の長期投与による脳機能の影響を検討した。ARA(240mg/kg/day)を13週間、老齢マウスに投与すると、n-3系脂肪酸欠乏ならびにn-3系脂肪酸正常マウス共に自発運動の上昇もしくはその傾向が観察された。水迷路試験、高架式十字迷路試験、新奇摂食抑制試験では、ARA投与に起因した作用は観察されなかったが、n-3系脂肪酸欠乏マウスのARA投与群では、ロータロッド試験で顕著な運動機能の低下が特徴的に認められた。試験終了後の血液および脳組織中の脂肪酸組成の解析では、ARAの長期投与は、血液および脳組織中のARAを中心としたn-6系脂肪酸の上昇と共にDHAを有意に減少させていた。また、n-3系脂肪酸欠乏若齢マウスに同量のARAを投与すると3週目から、自発運動量の有意な上昇が認められた。これらのことから、ARAの慢性的な投与は、n-3系脂肪酸欠乏状態を亢進させて、n-3系脂肪酸欠乏状態に特徴的な自発運動量の上昇と、それに伴って運動機能を低下させていることが考えられた。

A. 研究目的

n-3系脂肪酸欠乏(Def)ならびにn-3系脂肪酸正常(Adq)飼料で飼育・繁殖した老齢および若齢マウスを用いて、アラキドン酸(ARA)の長期投与における記憶学習ならびに情動行動、運動協調性等の脳機能への影響を評価する。

B. 研究方法

B-1. ARA油ならびに対照用混合油の脂肪酸分析

ARA油(CABIO社, Lot. 10050701, 中国)ならびに対照用混合油(豚脂:大豆油:タネ油 = 2:1:1)を希釈した後に、ねじ付の試験管に抗酸化剤としてブチルヒドロキソトルエンを含むメタノール-ヘキサソル溶媒(メタノール:ヘキサン=4:1)と内標(ドコサトリエン酸メチル, C22:3n-3)と共に加え、塩化アセチルの添加、攪拌の後に、100℃で60分間加熱させて脂質の抽出とメチル化反応を行った。試料の加熱

後、試験管を速やかに冷却、炭酸カリウム溶液で中和・分配し、遠心分離して、ヘキサソル層を採取し、これを検体としてガスクロマトグラフで分析した。また、各脂肪酸は、炭素数10から24個、不飽和度0から6個までの長鎖脂肪酸エステル(混合品)を用いて同定した。各油脂におけるARA、総脂肪酸の含有量を内標(C22:3n-3)から算出した[1, 2]。

B-2. n-3 Def, Adq老齢マウスに対するARAの作用

B-2-1. 評価スケジュール

AIN93Gを基礎飼料[3]としたn-3系脂肪酸欠乏もしくはn-3系脂肪酸正常飼料(表1)で飼育・繁殖した老齢マウス(52週齢)を用いて、ARA油を13週間の長期投与し、B-2-3以降に示す行動試験を行なってARAの作用を評価した。

表 1. 特殊飼料 (AIN93G) 中の脂質と脂肪酸組成
(% of total fatty acids)

材料	n-3 Def 飼料	n-3 Adq 飼料
脂質 (g/100g diet)	7	7
ココナツ油 (硬化)	5.67	5.43
サフラワー油	1.33	1.24
亜麻仁油	-	0.34
脂肪酸組成 (%)		
飽和脂肪酸	81.1	77.4
一価不飽和脂肪酸	3.1	4.6
多価不飽和脂肪酸		
総 n-6 系脂肪酸	14.4	14.3
総 n-3 系脂肪酸	0.1	2.6

B-2.2. ARA の投与

n-3 Def ならびに n-3 Adq マウスに毎日、強制経口投与した ARA の投与量は、240 mg/kg/day とし、毎週 1 回体重を測定し、その体重に基づいて投与用量を設定した。対照群としては、混合油(豚脂:大豆油:ナタネ油 = 2:1:1)を脂肪酸量が等量になるよう投与した。投与 13 週目以降もアラキドン酸の投与を継続しながら、行動学的評価を行ない、行動評価終了後に、血液、肝臓、脳組織等を採集した。これらの組織は、脂肪酸組成を測定まで -80℃ で保存した。

B-2.3. 自発運動量の測定

自発運動量は、マウスケージ内にワイヤレスホイール (ENV-044, ニューロサイエンス) を入れた装置を用いた。マウスを各ケージに 1 匹ずつ入れ、30 分間のホイール回転数を記録した。

B-2.4. モーリス水迷路試験

記憶学習試験としては、モーリス水迷路試験を用いた。試験に用いた装置は、高さ 30 cm、直径 100 cm の円形のプラスチック製プールに 90° 毎離れた等間隔の遊泳開始点を ①~③ の 3 ケ所設け、遊泳開始点 ② の対称となる位置に、直径 10 cm の安全地帯となるプラットホームを設置したものをを用いた。水温は 20 ± 1℃ とし、水面の高さも

一定に保った。またプール上部にはマウスの遊泳軌跡を記録する装置 (Time MWM, 小原医科産業) を備えている。実験中、マウスがプラットホームの空間的位置を学習するための手掛かりとなるプール周辺の絵や静物の配置は一定とした。実験初日 (Day 0) には、遊泳練習として黒色のプラスチック片を上方に持つプラットホームを水面上 0.5 cm に見えるように設置し、② の始点 1 ケ所からマウスを泳がせ遊泳能力を評価した。この際、90 秒以内にプラットホームに到達したマウスは、プラットホーム上で 30 秒間休ませ、プラットホームにたどり着けなかった個体についても 90 秒で遊泳を中止させプラットホームに誘導して 30 秒間プラットホーム上で休ませた。学習試行時 (Day 1-6) には、プラットホームを水面下 0.5 cm に設置し、周辺の風景を手がかりにプラットホームを探させ、学習能力を評価した。実験は 1 日 3 試行からなり、各試行ではプールの ①~③ の 3 ケ所全ての始点から無作為の順に選択して行った。プラットホームに到達したマウスは、プラットホーム上で 30 秒間休ませた後、ケージに戻し、5 分後に次の試行を行った。プラットホームにたどりつくことができなかった個体についても試行開始後 90 秒で遊泳を中止させプラットホームに引き上げ 30 秒間休ませた。各試行でのマウスがプラットホームにたどり着くまでの時間 (回避潜時) と遊泳時間ならびに遊泳距離を記録し、3 試行の記録を平均してデータとした。さらに実験最終日 (Day 7) には、試験試行としてプラットホームをプールから取り除いた状態で始点 ② からマウスを 90 秒間遊泳させ、プラットホームのあった位置の横切り回数、プラットホームを設置していた区画 ① に留まった時間や遊泳距離等を測定して他の区域と比較して学習獲得状態、すなわち学習試行で得られた結果が学習によるものであったかを調べた [4, 5]。

B-2.5. 高架式十字迷路試験

情動行動試験では、高架式十字迷路試験および新奇環境摂食抑制試験を用いた。高

架式十字迷路試験では、長さ 20 cm、幅 5 cm の 4 本のアームが十字形となった装置を用いた。4 本のアームのうち 1 対のアームには壁(クローズドアーム)を持ち、残りの 1 対は床だけのアーム(オープンアーム)となっている。中央部分にマウスを 2 分間静止させた後の 5 分間の十字形のアーム上での行動をビデオカメラ(HDR-SR1, SONY)で記録した。測定時間のうちにオープンアーム上に上半身(剣状突起)までが進出、滞在した時間を記録した [6]。

B-2.6. 新奇環境摂食抑制試験

新奇環境摂食抑制試験の測定は、オープンフィールド(50 × 50 × 20 cm)に厚さ約 2 cm の床敷きを敷きつめ、中央部分に飼料を固定した装置を用いた。マウスを一晩絶食させ、翌日、装置の隅にマウスを置き、空腹状態のマウスが中央にある飼料を確認、摂食するまでの行動をビデオカメラ(HDR-SR1, SONY)で記録した。測定項目としては、最初に飼料に接触するまでの時間(接触時間)、飼料に接触した回数(接触回数)、摂食するまでの時間(摂食時間)、評価時間内に摂食できた個体の割合(課題獲得率)を設定した。摂食行動の撮影終了後は、マウスを速やかにホームケージに戻し、空腹状態を確認するため 5 分間の摂食量を測定した [7]。

B-2.7. ロータロッド試験

実験には、ロータロッド(回転踏み車)試験装置(ENV-575M, ニューロサイエンス)を用いた。本試験の前日に 20 rpm の速度のローターにマウスを乗せ 5 分間の走行練習を行なった。翌日、ローターの回転数を 5 分間の測定時間内に 4 rpm から 40 rpm まで加速するように設定して、本試験を実施した。測定項目としては、ローターにマウスを乗せ、ローターの回転加速開始から落下するまでの時間を測定した。

B-2.8. 各組織中の脂肪酸組成分析

一連の行動試験に用いたマウスから、血液(血漿と赤血球)と脳組織を採取し、各試料

もしくは脳組織のホモジネートを作製して、以降、B-1-1 と同様に脂肪酸をメチル化後、ガスクロマトグラフ分析した。

B-3. n-3 Def, Adq 若齢マウスに対する ARA の作用

B-3-1. 評価スケジュール

AIN93G を基礎飼料とした n-3 Def もしくは n-3 Adq 飼料(表 2)で飼育・繁殖した若齢マウス(16 週齢)を用いて、毎日 ARA を投与し、経時的に自発運動量を測定(最初の 1 週間は毎日、以降 1 週間に 1 回)した。6 週間の ARA の投与後、自発運動量の測定と共に運動協調性試験(ロータロッド)を実施した。

表 2. 特殊飼料(AIN93G)中の脂質と脂肪酸組成(% of total fatty acids)

材料	n-3 Def 飼料	n-3 Adq 飼料
脂質 (g/100g diet)	5	5
ココナツ油(硬化)	4.05	3.88
サフラワー油	0.95	0.89
亜麻仁油	-	0.24
脂肪酸組成(%)		
飽和脂肪酸	78.1	75.1
一価不飽和脂肪酸	4.7	5.4
多価不飽和脂肪酸		
総 n-6 系脂肪酸	14.6	14.6
総 n-3 系脂肪酸	0.3	2.5

B-3-2. ARA の投与

B-2-2 と同様に実施した。

B-3-3. 自発運動量の測定

B-2-3 に準じたが、自発運動量の測定は、ARA 投与前に終了するようにした。

B-3-4. ロータロッド試験

B-2-7 と同様に実施した。

B-4. 統計学的処理

全てのデータは、(平均値) ± (標準誤差)で表わし、各群間の有意差検定は Student's t-test を用いた。

B-5 倫理面への配慮

本研究は、麻布大学動物実験指針第7第1項の規定に基づき、動物実験等計画を申請、承認(承認番号:100721-3)されたものである。

C. 研究結果

C-1. ARA 油と対照用混合油の脂肪酸分析結果

本研究事業に際して輸入・購入した ARA 油は、中国 CABIO 社から入手したもので、輸入前の品質評価ができなかったことから、入手後、脂肪酸分析を実施し、その結果から、各マウスへの投与容量を決定した(表3)。CABIO 社から入手した分析証明書では、ARA 油の ARA 含有量は、40% (w/w) 以上と表記されており、分析結果から算出された ARA 含有量 $40.4 \pm 0.2\%$ (w/w) でも確認された。また、ARA 酸油を経口投与する際の対照用混合油(豚脂:大豆油:ナタネ油=2:1:1)についても脂肪酸分析し、対照群に ARA の影響の無いことを確認した。これらの分析結果から、ARA の投与量(240 mg/kg/day)は、ARA 油 640 μ l/kg/day、対照群では、対照用混合油 644 μ l/kg/day の投与容量に決定した。

表3. ARA 油ならびに対照用混合油の脂肪酸分析結果 (% of total fatty acids)

脂肪酸	ARA 油	対照用混合油
12:0	ND	0.06 ± 0.001
14:0	0.40 ± 0.01	0.91 ± 0.003
16:0	6.95 ± 0.01	16.12 ± 0.02
18:0	5.91 ± 0.02	8.74 ± 0.01
20:0	0.81 ± 0.004	0.34 ± 0.01
22:0	3.21 ± 0.01	0.22 ± 0.003
23:0	0.10 ± 0.01	ND
24:0	9.51 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Total sat.	26.89 ± 0.003	26.47 ± 0.04
14:1	ND	0.14 ± 0.001
16:1n-7	0.22 ± 0.001	1.35 ± 0.01
18:1n-9	5.31 ± 0.003	39.98 ± 0.04
18:1n-7	0.27 ± 0.004	2.54 ± 0.01
20:1n-9	0.22 ± 0.001	0.79 ± 0.04
22:1n-9	0.07 ± 0.01	ND
24:1	0.37 ± 0.01	ND
Total mono.	6.46 ± 0.01	44.79 ± 0.08
18:2n-6	9.38 ± 0.01	22.26 ± 0.03
18:3n-6	2.40 ± 0.004	0.03 ± 0.01
20:2n-6	0.47 ± 0.002	0.20 ± 0.01
20:3n-6	3.85 ± 0.01	ND
20:4n-6	45.11 ± 0.04	0.05 ± 0.002
22:4n-6	0.31 ± 0.004	ND
Total n-6 FA	61.53 ± 0.05	22.54 ± 0.01
18:3n-3	0.06 ± 0.003	3.84 ± 0.01
20:5n-3	0.52 ± 0.002	0.10 ± 0.001
22:5n-3	ND	ND
22:6n-3	ND	ND
Total n-3 FA	0.58 ± 0.004	3.94 ± 0.01
ARA 含有量		
(mg/100 μ l)	37.5 ± 0.2	0.043 ± 0.002
(mg/100 mg)	40.4 ± 0.2	0.047 ± 0.002
脂肪酸含有量		
(mg/100 μ l)	83.2 ± 0.4	82.6 ± 0.2
(mg/100 mg)	89.5 ± 0.4	90.0 ± 0.2

数値は、平均値 ± 標準誤差で示した。(ND: 未検出)

C-2. n-3 Def, Adq 老齢マウスに対する ARA の作用

C-2-1. ARA 油投与期間中の体重変化と所見

n-3 Def ならびに n-3 Adq マウスに ARA

油を13週間、強制経口投与(240 mg/kg/day)した際の体重変化において、アラキドン酸の影響と見られる所見は得られなかった。しかし、投与期間中、n-3 Adq-ARA 投与群(AA)で14匹中2匹、原因不明の突然死となって脱落した個体があった。さらに、試験終了後の組織採取時の解剖所見で、重篤な肝臓腫瘍等が観察された個体は、n-3 Def-Cont 群(DC)で13匹中3匹、n-3 Def-ARA 群(DA)で15匹中3匹、n-3 Adq-Cont 群(AC)で13匹中3匹、n-3 Adq-ARA 群(AA)で12匹中1匹であった。これらの個体については、正確にARA長期投与における作用を評価できないものと判断し、各群の行動試験成績から除外した。

C-2.2. 自発運動量

マウスをワイヤレスホイールの入った個別ケージに入れ、30分間のホイール回転数を自発運動量として測定した。n-3 Def, n-3 Adq共にARA長期投与の影響と思われる自発運動量の増加が観察された(図1)。

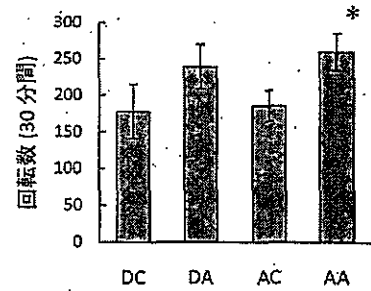


図1. 自発運動量に対するARA油投与の影響
DC, n-3 Def-Cont (n=10); DA, n-3 Def-ARA (n=12); AC, n-3 Adq-Cont (n=10); AA: n-3 Adq-ARA (n=11)を示す。
(*P<0.05 vs AC, t-test)

C-2.3. モーリス水迷路試験

水迷路試験での学習試行における回避潜時(プラットホームにたどり着くまでの時間)では、各群間に差を認めるまでには至らなかった(図2A)が、学習試行終了後の試験試行において、プラットホームのあった領域“0”の横切り回数が、他の領域よりも顕著に多かったのは、n-3 Def-ARA 群とn-3 Adq-Cont 群であった(図2B)。

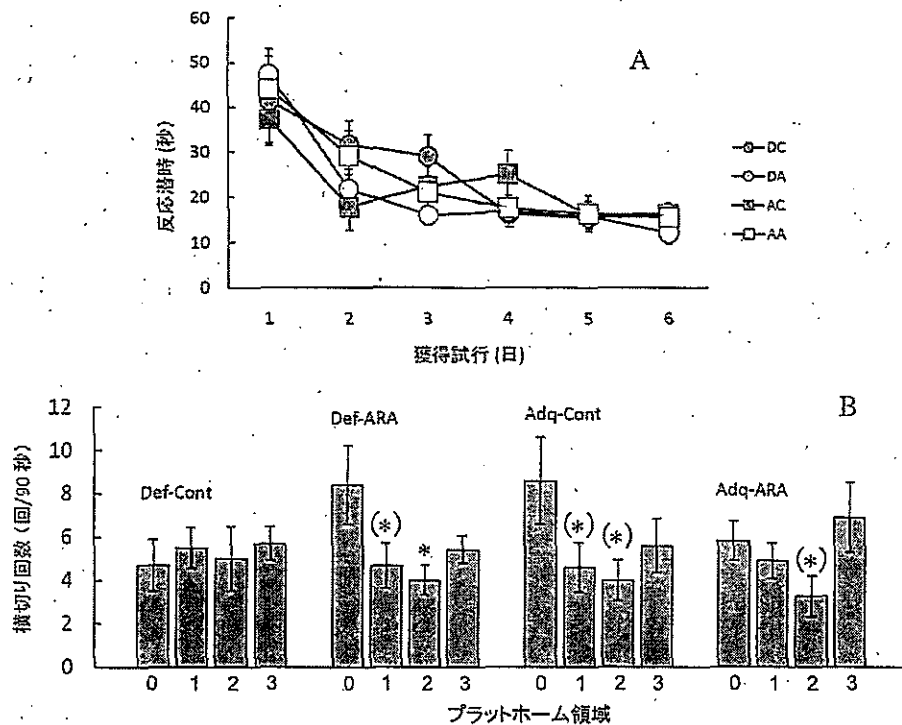


図2. 水迷路試験の回避潜時におけるARA油投与の影響 (A: 学習試行, B: 試験試行)
群名については、図1を参照のこと。((*) P<0.10; * P<0.05 vs Region 0, t-test)

C-2-4. 高架式十字迷路試験

オープンアームへの侵入回数では、各群間に著差を認めなかった(図3A)。オープンアームでの滞在時間では、n-3 Def群の方がn-3 Adq群よりも不安の程度が高い傾向にあることが推察されたが、有意差を得るまでには至らなかった。また、ARA投与により滞在時間の延長傾向が観察されたが、有意差は認められなかった(図3B)。

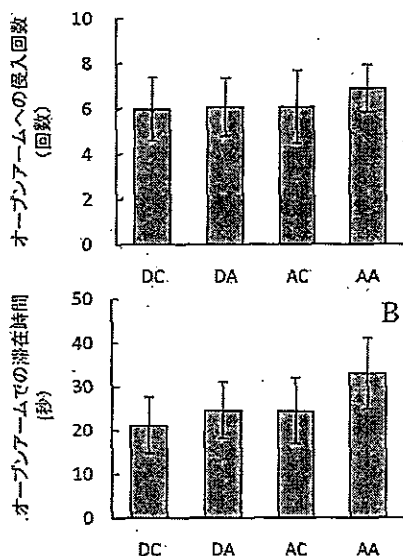


図3. 高架式十字迷路試験におけるARA油投与の影響
図Aは、オープンアームへの侵入回数を、図Bは、オープンアームでの滞在時間を示す。群名については、図1を参照のこと。

C-2-5. 新奇環境摂食抑制試験

一晩絶食後の各マウスが、オープンフィールド内中央の飼料を摂食するまでの時間を図4に示した。有意差を得るまでには至っていないが、この試験でもn-3 Def群は、n-3 Adq群に比べて摂食するまでの時間が

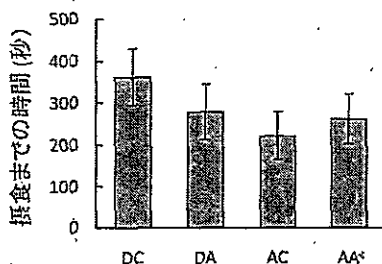


図4. 新奇環境摂食抑制試験におけるARA油投与の影響群名については、図1を参照のこと。

長い傾向にあり、不安状態がn-3 Adq群よりも高いことが推察されたが、ARA投与による影響は観察されなかった(図4)。

C-2-6. 運動協調性(ロータロッド)試験

筋協調性(運動記憶)を評価するロータロッド試験において、n-3 Def-ARA群は、著しい落下時間の短縮を示した(図5)。しかし、n-3 Adq-ARA群ではそのような変化が観察されなかった。

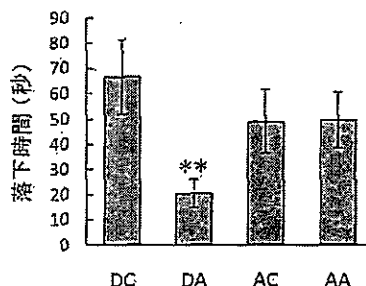


図5. ロータロッド試験におけるARA油投与の影響
群名については、図1を参照のこと。
(**P<0.01 vs DC, t-test)

C-2-7. ARA投与後の血液中の脂肪酸組成

n-3 Defならびにn-3 Adqマウス共に、対照群では、ARA投与群と比較して血漿中ならびに赤血球膜中の飽和脂肪酸(24:0)や一価不飽和脂肪酸(18:1n-9)の含有量が上昇していた。一方、ARA投与群では、ARAとそれよりも長鎖のn-6系脂肪酸が、10~20%上昇し、DHAを中心とした30~50%のn-3系総脂肪酸の有意な低下が観察された。(表4-5)。

C-2-8. ARA投与後の脳組織の脂肪酸組成

脳組織においても対照群の飽和脂肪酸や一価不飽和脂肪酸の含有量の上昇が観察されたが、その程度は、血漿や赤血球膜のそれよりも低いものであった。また、ARA投与群では、ARAとそれよりも長鎖のn-6系脂肪酸の有意な上昇とDHAを中心としたn-3系総脂肪酸の有意な低下が観察された(表6)。

表 4 ARA 油長期投与による血漿中の脂肪酸組成の変化

	n-3 Def		n-3 Adq	
	Control (n=10)	ARA (n=12)	Control (n=10)	ARA (n=11)
10:0	0.11 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.03
12:0	2.12 ± 0.24	1.22 ± 0.14	1.54 ± 0.23	1.88 ± 0.35
14:0	1.61 ± 0.15	1.10 ± 0.07	1.28 ± 0.13	1.47 ± 0.20
16:0 DMA	0.34 ± 0.04	0.33 ± 0.02	0.37 ± 0.05	0.40 ± 0.04
16:0	19.41 ± 0.34	18.29 ± 0.41	19.39 ± 0.37	18.22 ± 0.36
18:0 DMA	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.01
18:0	10.20 ± 0.43	10.81 ± 0.22	9.77 ± 0.39	10.20 ± 0.24
20:0	0.29 ± 0.04	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.29 ± 0.03
22:0	0.36 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.35 ± 0.04	0.39 ± 0.04
24:0	0.22 ± 0.01	0.31 ± 0.02**	0.23 ± 0.03	0.33 ± 0.02**
Total sat.	34.72 ± 0.62	32.82 ± 0.64	33.28 ± 0.59	33.33 ± 0.82
16:1n7	2.26 ± 0.13	2.06 ± 0.15	2.15 ± 0.18	1.60 ± 0.09*
18:1 DMA	0.06 ± 0.02	0.13 ± 0.01**	0.08 ± 0.02	0.14 ± 0.01*
18:1n9	14.46 ± 0.61	11.37 ± 0.43**	13.99 ± 0.94	10.84 ± 0.56**
18:1n7	2.72 ± 0.15	2.23 ± 0.11	2.55 ± 0.29	1.68 ± 0.11**
20:1n9	0.51 ± 0.04	0.34 ± 0.02**	0.45 ± 0.05	0.34 ± 0.02
22:1n9	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.01
24:1	0.50 ± 0.08	0.41 ± 0.03	0.49 ± 0.05	0.39 ± 0.04
Total mono.	20.56 ± 0.73	16.57 ± 0.60**	19.73 ± 1.31	15.03 ± 0.67**
18:2n6	17.87 ± 0.66	12.80 ± 0.41**	19.29 ± 0.70	14.07 ± 0.46**
18:3n6	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.01
20:2n6	0.17 ± 0.01	0.10 ± 0.003**	0.19 ± 0.01	0.10 ± 0.01**
20:3n6	1.48 ± 0.07	0.79 ± 0.04**	1.41 ± 0.08	0.73 ± 0.03**
20:4n6	15.89 ± 0.83	27.66 ± 0.63**	13.64 ± 0.67	25.19 ± 0.94**
22:4n6	0.22 ± 0.01	0.56 ± 0.03**	0.13 ± 0.02 [#]	0.33 ± 0.02 ^{##,**}
22:5n6	1.50 ± 0.18	2.14 ± 0.12**	0.38 ± 0.05 ^{##}	0.70 ± 0.04 ^{##}
Total n-6	37.35 ± 0.94	44.26 ± 0.62**	35.25 ± 1.24	41.31 ± 0.73**
18:3n3	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.004	0.37 ± 0.03 ^{##}	0.36 ± 0.03 ^{##}
20:5n3	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.50 ± 0.03 ^{##}	0.22 ± 0.02 ^{##,**}
22:5n3	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.24 ± 0.02 ^{##}	0.31 ± 0.01 ^{##,**}
22:6n3	1.59 ± 0.10	0.79 ± 0.03**	5.12 ± 0.22 ^{##}	3.45 ± 0.17 ^{##,**}
Total n-3	1.71 ± 0.09	0.90 ± 0.02**	6.23 ± 0.19 ^{##}	4.34 ± 0.14 ^{##,**}
Total FA (µg/100µl)	448.50 ± 39.32	452.49 ± 30.28	408.12 ± 33.80	402.08 ± 20.05

数値は、平均値 ± 標準誤差で示した。(ND: 未検出)

*P<0.05, **P<0.01, 同一飼料内の Control と ARA 群間の比較.

[#]P<0.05, ^{##}P<0.01, Control 群, ARA 群における飼料間の比較.

表 5 ARA 油長期投与による赤血球膜中の脂肪酸組成の変化

	n-3 Def		n-3 Adq	
	Control (n=10)	ARA (n=12)	Control (n=10)	ARA (n=11)
12:0	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.13 ± 0.03
14:0	0.49 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.48 ± 0.02	0.49 ± 0.03
16:0 DMA	1.45 ± 0.04	1.48 ± 0.06	1.48 ± 0.05	1.64 ± 0.05
16:0	23.88 ± 0.24	23.69 ± 0.20	24.28 ± 0.20	24.57 ± 0.12 [#]
18:0 DMA	0.69 ± 0.02	0.82 ± 0.04*	0.77 ± 0.02	0.87 ± 0.03
18:0	11.93 ± 0.21	13.38 ± 0.13**	12.10 ± 0.35	13.38 ± 0.18**
20:0	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.37 ± 0.02
22:0	1.01 ± 0.02	1.15 ± 0.03**	1.00 ± 0.01	1.07 ± 0.03
23:0	0.18 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.01
24:0	1.73 ± 0.05	2.08 ± 0.07**	1.91 ± 0.08	2.27 ± 0.05**
Total sat.	42.01 ± 0.27	43.93 ± 0.32**	42.86 ± 0.37	45.14 ± 0.18^{#,**}
16:1n7	0.77 ± 0.06	0.80 ± 0.07	0.71 ± 0.05	0.56 ± 0.02 [#]
18:1 DMA	0.42 ± 0.02	0.33 ± 0.01**	0.42 ± 0.03	0.33 ± 0.02**
18:1n9	12.14 ± 0.26	9.81 ± 0.14**	11.67 ± 0.34	9.88 ± 0.26**
18:1n7	2.85 ± 0.07	2.19 ± 0.06**	2.66 ± 0.17	1.86 ± 0.09**
20:1n9	0.57 ± 0.04	0.34 ± 0.02**	0.49 ± 0.02	0.30 ± 0.01**
22:1n9	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.02*	0.09 ± 0.01	0.03 ± 0.01*
24:1	2.08 ± 0.05	1.58 ± 0.06**	1.96 ± 0.06	1.45 ± 0.04**
Total mono.	18.94 ± 0.32	15.10 ± 0.20**	18.02 ± 0.43	14.42 ± 0.36**
18:2n6	6.41 ± 0.22	4.75 ± 0.14**	6.75 ± 0.28	4.85 ± 0.13**
20:2n6	0.16 ± 0.01	0.05 ± 0.01**	0.18 ± 0.01	0.09 ± 0.01 ^{#,**}
20:3n6	1.52 ± 0.06	0.81 ± 0.02**	1.45 ± 0.05	0.73 ± 0.02**
20:4n6	20.82 ± 0.17	25.54 ± 0.24**	18.58 ± 0.30 ^{##}	24.32 ± 0.23 ^{##,**}
22:4n6	2.00 ± 0.06	3.09 ± 0.09**	1.61 ± 0.04 ^{##}	2.64 ± 0.04 ^{##,**}
22:5n6	3.20 ± 0.22	3.45 ± 0.17	0.80 ± 0.06 ^{##}	1.44 ± 0.06 ^{##,*}
Total n-6	34.12 ± 0.22	37.71 ± 0.21**	29.37 ± 0.33^{##}	34.08 ± 0.22^{##,**}
18:3n3	ND	ND	0.07 ± 0.02 ^{##}	0.03 ± 0.01
20:5n3	0.02 ± 0.02	ND	0.40 ± 0.02 ^{##}	0.15 ± 0.01 ^{##,**}
22:5n3	0.18 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.67 ± 0.05 ^{##}	0.56 ± 0.02 ^{##,*}
22:6n3	1.95 ± 0.06	0.85 ± 0.02**	5.84 ± 0.17 ^{##}	3.60 ± 0.07 ^{##,**}
Total n-3	2.16 ± 0.05	0.98 ± 0.03**	6.98 ± 0.19^{##}	4.33 ± 0.06^{##,**}
Total FA (μg/100μl)	307.94 ± 9.93	300.24 ± 8.05	296.30 ± 4.48	276.76 ± 3.44

数値は、平均値 ± 標準誤差で示した。

*P<0.05, **P<0.01, 同一飼料内の Control と ARA 群間の比較,

[#]P<0.05, ^{##}P<0.01, Control 群における飼料間の比較。

表 6 ARA 油長期投与による脳内脂肪酸組成の変化

	n-3 Def		n-3 Adq	
	Control (n=10)	ARA (n=12)	Control (n=10)	ARA (n=11)
14:0	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01
16:0 DMA	2.02 ± 0.06	1.93 ± 0.02	1.92 ± 0.02	1.92 ± 0.01
16:0	16.01 ± 0.07	16.21 ± 0.08	15.94 ± 0.06	15.99 ± 0.07
18:0 DMA	3.31 ± 0.03	3.28 ± 0.03	3.46 ± 0.03 ^{##}	3.42 ± 0.03 [#]
18:0	18.34 ± 0.05	18.57 ± 0.09	18.31 ± 0.10	18.40 ± 0.05
20:0	0.49 ± 0.01	0.47 ± 0.01	0.47 ± 0.01	0.46 ± 0.01
22:0	0.63 ± 0.02	0.64 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.72 ± 0.04
23:0	0.36 ± 0.02	0.37 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.35 ± 0.01
24:0	0.99 ± 0.06	0.97 ± 0.04	0.96 ± 0.03	0.93 ± 0.04
Total sat.	42.27 ± 0.07	42.58 ± 0.10	42.22 ± 0.10	42.31 ± 0.10
16:1n7	0.51 ± 0.02	0.52 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.50 ± 0.01
18:1 DMA	1.40 ± 0.02	1.39 ± 0.02	1.43 ± 0.02	1.41 ± 0.02
18:1n9	15.36 ± 0.12	14.80 ± 0.08 ^{**}	15.67 ± 0.06	15.29 ± 0.08 ^{##,*}
18:1n7	3.60 ± 0.03	3.65 ± 0.02	3.45 ± 0.02 ^{##}	3.41 ± 0.02 ^{##}
20:1n9	2.41 ± 0.02	2.30 ± 0.02	2.42 ± 0.04	2.35 ± 0.04
22:1n9	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.01
24:1	3.66 ± 0.05	3.60 ± 0.10	3.71 ± 0.07	3.71 ± 0.05
Total mono.	27.18 ± 0.13	26.48 ± 0.17	27.45 ± 0.13	26.92 ± 0.16
18:2n6	0.30 ± 0.01	0.24 ± 0.01 ^{**}	0.37 ± 0.02 ^{##}	0.27 ± 0.01 ^{**}
20:2n6	0.08 ± 0.002	0.07 ± 0.002 ^{**}	0.09 ± 0.004	0.07 ± 0.002 ^{**}
20:3n6	0.26 ± 0.02	0.17 ± 0.01 ^{**}	0.35 ± 0.03 [#]	0.20 ± 0.01 ^{**}
20:4n6	7.96 ± 0.04	8.34 ± 0.07 ^{**}	7.43 ± 0.06 ^{##}	7.96 ± 0.06 ^{##,**}
22:2n6	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.005	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.005 ^{##,**}
22:4n6	3.02 ± 0.03	3.45 ± 0.03 ^{**}	2.47 ± 0.03 ^{##}	2.82 ± 0.04 ^{##,**}
22:5n6	2.82 ± 0.14	4.20 ± 0.14 ^{**}	0.29 ± 0.02 ^{##}	0.55 ± 0.02 ^{##}
Total n-6	14.53 ± 0.16	16.53 ± 0.13^{**}	11.08 ± 0.08^{##}	11.97 ± 0.08^{##,**}
22:5n3	0.06 ± 0.004	0.06 ± 0.003	0.14 ± 0.004 ^{##}	0.12 ± 0.003 ^{##,**}
22:6n3	10.13 ± 0.15	8.51 ± 0.12 ^{**}	13.39 ± 0.05 ^{##}	13.01 ± 0.08 ^{##}
Total n-3	10.18 ± 0.15	8.57 ± 0.13^{**}	13.53 ± 0.05^{##}	13.13 ± 0.08^{##}
Total FA	44.91 ± 1.31	43.03 ± 0.28	42.51 ± 0.45	42.80 ± 0.47

数値は、平均値 ± 標準誤差で示した。(ND: 未検出)

*P<0.05, **P<0.01, 同一飼料内の Control と ARA 群間の比較,

[#]P<0.05, ^{##}P<0.01, Control 群における飼料間の比較.

C-3. n-3 Def, Adq 若齢マウスに対する ARA の作用

C-3-1. ARA 投与による自発運動量の変化

n-3 Def 群において、薬液の投与開始から 1 週間目までは、対照群は、ARA 投与群よりも高値を示した。その後、対照群は、測定の日齢によると見られる自発運動量の低下が観察されたが、ARA 投与群は、緩やかに上昇し続け、投与 3 週目以降、有意な自発運動の上昇を示した (図 6)。一方、n-3 Adq マウスに薬液を投与した場合、投与期間を通じて、自発運動量に顕著な差は認められなかった。

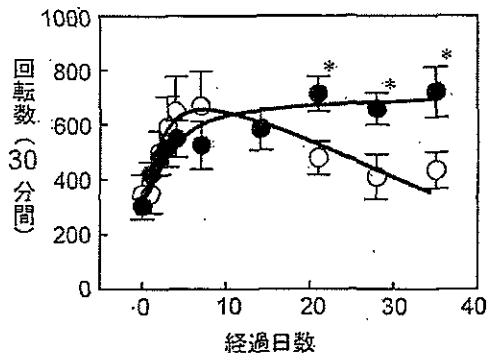


図 6. ARA 投与による自発運動量の経時的変化 (n-3 Def 群)
 ○, n-3 Def-Cont (n=10); ●, n-3 Def-ARA (n=10)
 (* $P < 0.05$ vs n-3 Def-Cont, t-test)

C-3-2. 運動協調性試験

実験最終日に行なった運動協調性試験 (ロータロッド試験) の結果を図 7 に示す。ARA 投与により、落下時間の低下が観察されたが、有意差を得るまでには至らなかった。

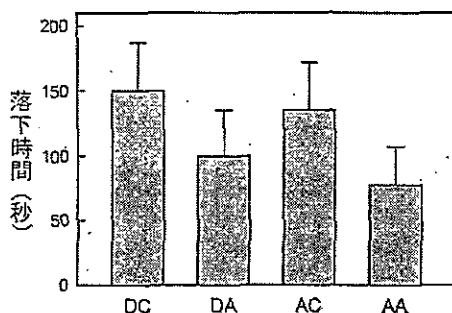


図 7. 運動協調性試験における ARA 投与の影響
 群名については、図 1 を参照のこと。

D. 考察

今回、n-3 Def ならびに n-3 Adq 飼料で、飼育・繁殖した老齢と若齢マウスに ARA を長期投与して脳機能の影響を検討した。実施した行動試験のうち、空間認識能力を評価する水迷路試験、不安などの情動行動を評価する高架式十字迷路試験、新奇摂食抑制試験では、ARA 投与に起因した作用を検出するまでには至らなかったが、老齢、若齢共に ARA 投与により、自発運動量の顕著な上昇と運動協調性の低下とその傾向が認められた。ARA 投与によって自発運動量が高まっているにもかかわらず、運動協調性試験において、歩行時間の有意な短縮もしくはその傾向が再現性良く認められたことは、運動機能を司る小脳機能 (運動記憶) に何らかの影響を与えていることが考えられた。自発運動量と運動協調性試験の測定結果を老齢と若齢動物で比較すると、ARA 投与による自発運動量の上昇と運動協調性の低下の傾向は変わらないが、有意な差として得られた群間が異なっていた。これは、自発運動における 30 分間の回転数 (老齢 65 週齢、170 ~ 250 回; 若齢 22 週齢、400 ~ 700 回) や、ロータロッド試験における落下時間 (老齢、20 ~ 70 秒; 若齢、100 ~ 150 秒) からわかるように週齢差 (老齢と成獣) による運動能力の違いによって課題負荷量が異なったために、ARA 投与による作用の差異が生じたものと考えられた。

一般に食事性の血漿中と赤血球膜中の脂肪酸組成変化には、時差を生じることが知られているが、ARA の長期投与後の血液および脳組織中の脂肪酸組成の変化とその量は、大同小異で投与期間が長期のために脂肪酸の変化としては安定した状態になっていたと考えられた。脳組織も含め、各群の脂肪酸組成は、その投与液の脂肪酸組成に影響を受け、対照群では、一価不飽和脂肪酸が、ARA 投与群では、n-6 系脂肪酸がそれぞれ増加することは当然であるが、ARA 投与により、n-3 系脂肪酸が有意に減少したことは特記すべき点と考えて

いる。これまで、n-3 Def動物は、自発運動量の上昇 [8] と共に空間認識能力の低下 [5, 8]、不安レベルの上昇 [6, 7] 等を報告されている。今回の一連の行動試験において n-3 Def群と n-3 Adq群間に著差が認められなかったのは、測定条件が至適なものではなかったと考えられ、今後、さらに至適条件を考慮する必要があるが、自発運動量の上昇は、ARAの長期投与による脳内のARAの上昇よりもそれに伴って生じたDHAなどn-3系脂肪酸の低下によって、n-3系脂肪酸欠乏状態が亢進して生じたものと考えられた。また、n-3 Def若齢マウスにARAを投与すると3週目から、自発運動量の有意な上昇が認められたことは、ARA投与開始から比較的早期にその影響が表れることを示している。

E. 結論

ARAの長期投与は、脳内のARA量の上昇のみならず、DHAの減少を引き起こし、n-3系脂肪酸欠乏状態を亢進させて、自発運動量を顕著に上昇させ、行動試験結果に影響を与えたと考えられた。ARAの単独、長期的な摂取は、n-3系脂肪酸欠乏で観察される脳機能の低下をもたらす可能性があると考えられると注意する必要があると考えられた。

F. 参考論文

1. Lepage, G. and Roy, C.C. (1986) Direct Transesterification of All Classes of Lipids in a One-Step Reaction. *J. Lipid Res.* 27, 114-120.
2. Masood, A., Stark, K.D., Salem, N. Jr. (2005) A Simplified and Efficient Method for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters Suitable for Large Clinical Studies. *J. Lipid Res.* 46, 2299-2305.
3. Reeves, P.G., Nielsen, F.H., and Fahey, G.C. (1993) Committee Report on the AIN-93 Purified Rodent Diet. *J. Nutr.* 123, 1939-1951.
4. Moriguchi T, Saito H and Nishiyama

N (1996) Aged garlic extract prolongs longevity and improves spatial memory deficit in senescence-accelerated mouse. *Biol. Pharm. Bull.* 19, 305-7.

5. Moriguchi, T. and Salem N.Jr. (2003) Recovery of Brain Docosahexaenoate leads to Recovery of Spatial Task Performance. *J. Neurochem.* 87, 297-309.
6. Fedorova, I. and Salem, N., Jr. (2006) Omega-3 Fatty Acids and Rodent Behavior. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 75, 271-289.
7. Harauma, A. and Moriguchi, T. (2011) Dietary n-3 Fatty Acid Deficiency in Mice Enhances Anxiety Induced by Chronic Mild Stress. *Lipids.* 46, 409-16.
8. Moriguchi, T., Greiner, R.S., Salem, N.Jr. (2000) Behavioral Deficits Associated with Dietary Induction of Decreased Brain Docosahexaenoic Acid Concentration. *J. Neurochem.* 75, 2563-2573.

G. 研究発表

本研究結果が直接関係した業績はないが、間接的に関連した内容を掲載する。

G-1. 学会発表

1. Toru Moriguchi, Role of polyunsaturated fatty acids in murine emotional behavior, The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society - Neuroscience of the Mind -, Symposium S3-E-1: Basic biology and clinical implications of lipids, Sep. 16, Yokohama (2011).
2. 原馬 明子, 齊藤 純平, 渡邊 芳剛, 川端 二功, 守口 徹, n-3系脂肪酸欠乏マウスを用いたドライアイに関する検討, 日本脂質栄養学会第20回大会, 抄録集 P145, Sep. 2, 女子栄養大学(埼玉県)

G-2. 学術論文

1. Harauma A, Moriguchi T, Dietary n-3 Fatty Acid Deficiency in Mice Enhances Anxiety Induced by Chronic Mild Stress, *Lipids*, 46 (5) : 409-16 (2011)
2. Harauma A, Salem N Jr, Moriguchi T, Repletion of n-3 fatty acid deficient dams with alpha-linolenic acid: effects on fetal brain and liver fatty acid composition, *Lipids*, 45(8) : 659-68 (2011)

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小林 哲幸	求められる、油脂製品の安全性とリスク評価	ファルマシア	47, (4)	317-321	2011年
鈴木 平光	DHA・EPAによるメタボリックシンドロームと認知症の予防・改善	アクアネット	13巻5号	26-31	2010年
鈴木 平光 山田 麻未	必須脂肪酸の摂取基準の現状	オレオサイエンス	11巻11号	441-442	2011年

IV. 研究成果の刊行物・別刷

求められる，油脂製品の安全性とリスク評価

小林哲幸
Tetsuyuki KOBAYASHI
お茶の水女子大学大学院教授

1. はじめに

2009年12月，米国ニューヨーク市が外食産業に対して，トランス脂肪酸を含む食用油の使用を規制すると発表したことが，日本でも大きく報道されたことは記憶に新しい。その後，我が国でもトランス脂肪酸への関心が高まっており，2010年12月末には小売り大手のセブン&アイ・ホールディングスが，トランス脂肪酸を含む商品を原則として売り場に置かない方針を表明した。また2009年9月には，花王が特定保健用食品(トクホ)の食用油「エコナ」の製造販売中止を発表し，その1か月後にはトクホの表示許可の返上を同社が申し出た。油脂製品にかかわるこの2つの大きな出来事は，私たちの健康を支える食の安全と安心を考える上で，いろいろな課題を投げかけた。本稿では，トランス脂肪酸とエコナ油を中心に，我が国における油脂製品にかかわる安全性とリスク評価の現状について考えてみたい。

2. トランス脂肪酸

天然に存在する不飽和脂肪酸の多くは，シス型二重結合を含む。これに対し，トランス型二重結合を持つ不飽和脂肪酸の総称がトランス脂肪酸(図1)であり，次のような理由で各種食品に含まれる。工業的に作られる場合として，常温で液体の植物油から固体あるいは半固体の油脂を製造する加工技術である“水素添加”によって，トランス脂肪酸が生成する。その結果，マーガリンやショートニングなどの加工油脂やこれらを原材料に作られたパンやケーキ，ドーナツなどに含まれることになる。また，サラダ油などの精製植物油では脱臭のための高温処理によりトランス脂肪酸ができることもあるが，一般にごく微量となるように管理されている。油を高温で加熱する調理過程でも，シス型不飽和脂肪酸からトランス型が生成する可能性がある。一方で天然においても，牛や羊などの反芻動物では胃中の微生物の働きによってトランス脂肪酸が作られるため，牛肉・羊肉，牛乳・乳製品にも微量のトランス脂肪酸が含まれる。

近年，欧米を中心に，トランス脂肪酸の安全性が問題視され食品市場への影響が現れてきている。具体的には，世界保健機関(WHO)/国際連合食糧農業機構(FAO)の「食事，栄養および慢性疾患予防に関する合同専門家会合」の報告書(2003年)では，心血管系を健康に保つた

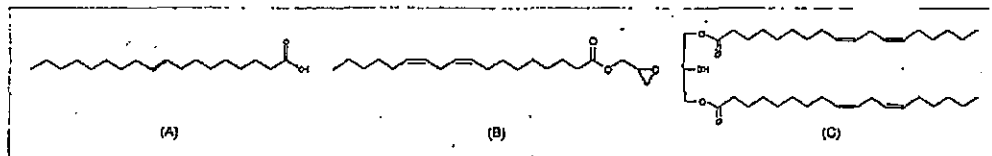


図1 油脂製品で問題となっている主な分子の構造式

(A) エライジン酸(トランス脂肪酸の代表例)，(B) グリシドールリノール酸エステル(グリシドール脂肪酸エステルの代表例)，(C) 1,3-ジリノレイルグリセロール(ジアシルグリセロールの代表例)。

表1 諸外国におけるトランス脂肪酸の規制(2010年12月現在)

国名	規制の内容
デンマーク	2004年から、国内のすべての食品を対象に、総油脂の2%までとする制限を実施
カナダ	2005年から、栄養成分表示義務化の中で、トランス脂肪酸も対象に指定
米国	2006年から、加工食品中のトランス脂肪酸含有量の表示を義務化
南米諸国 ブラジル、アルゼンチン、パラグアイ、ウルグアイ、チリ	2006年から、トランス脂肪酸を含む栄養成分表示を義務化
韓国	2007年から、栄養成分表示にトランス脂肪酸を追加
台湾	2008年から、栄養成分表示にトランス脂肪酸を追加
香港	2010年から、トランス脂肪酸を含む栄養成分表示を義務化
日本	栄養成分表示は任意(表示義務化を検討中)
EU諸国	栄養成分表示は任意(表示義務化を検討中)
中国	栄養成分表示は任意

めに食事からのトランス脂肪酸の摂取を極めて低く抑えるべきであり、その摂取量を最大でも1日当たりの総エネルギー摂取量の1%未満とするよう勧告している。その後、ヨーロッパ、北米、南米、アジアの諸外国で様々な規制や成分表示の義務化が実行されている(表1)。国際食品規格の作成などを担うコーデックス委員会^{※1}でも、「任意または義務的に表示される栄養成分リスト」の1項目として、トランス脂肪酸が取り上げられている。

これに対して我が国の動向はというと、最近になって消費者庁等が中心となり、食品に含まれるトランス脂肪酸の栄養成分表示の義務化へ向けた取組みが活発化してきている。内閣府の食品安全委員会^{※2}が公表しているトランス脂肪酸のファクトシート(科学的知見をまとめた概要書)³⁾によると、2010年12月現在、以下のような各省庁の動きがある。

厚生労働省は、「日本人の食事摂取基準(2010年版)」で、「日本人のトランス脂肪酸摂取量(欧米に比較し少ない摂取量)の範囲で疾病罹患のリスクになるかどうかは明らかでない」。しかし、「日本人の中にも欧米人のトランス脂肪酸摂取量に近い人もいる。このため日本でも工業的に生産されるトランス脂肪酸は、すべての年齢層で、少なく摂取することが望まれる」と記述している。²⁾ 農林水産省でも、トランス脂肪酸に関する文献調査や国内外の情報の収集・解析を行い、農水省のホームページで「トランス脂肪酸に関する情報」として公表している。⁴⁾

消費者庁では、2009年12月から関係省庁と連携して、トランス脂肪酸の摂取量や健康への影響等に関する情報収集を行い、栄養成分表示の制度化に向けた具体的な検討に取り組んでいる。2010年9月には、トランス脂肪酸に関するファクトシートを公表し、また食品事業者に対し、トランス脂肪酸を含む脂質に関する情報を自主的に開示する取組みを進めるよう要請するため、同年10月には、「トランス脂肪酸の情報開示に関する指針について(案)」を公表してパブリックコメントを募集し、2011年2月には見直すことも前提に指針を公表した。⁵⁾ 食品安全委員会でも、トランス脂肪酸について評価することを決定し、2010年4月から新開発食品専門調査会で評価のための検討が開始された。⁶⁾

それでは、日本人は実際にどのくらいの量のトランス脂肪酸を食べているのであろうか? 女子大学生⁷⁾や30~69歳の男女⁸⁾を対象にした食事栄養調査によると、日本人1日当たりのトランス脂肪酸の摂取量は、平均1.2~1.7g(総エネルギーの0.6~0.8%)であった。ただし成人男

※1 コーデックス委員会、※2 食品安全委員会についての用語解説は、294頁参照。

性の5.7%、成人女性の24.4%がWHOの勧告値である1%を上回っていた。また、フライドポテトや菓子パン類を多く食べた女子大学生の中には2.8~3.3gと高値を示す場合も見られた。

ここで一番重要なことは、そもそもトランス脂肪酸の有害性(裏を返すと安全性)には、どの程度の科学的根拠があるのかという点である。トランス脂肪酸の摂取を制限しようとする動きが国際的に高まった理由は、トランス脂肪酸の摂取量と冠動脈疾患の発症率の間に正の相関があるとする、米国での疫学調査に基づいている。トランス脂肪酸の摂取量が多い女性において、心筋梗塞の相対危険度が1.2~1.4程度に高まっているとの報告⁹⁾がある一方で、欧米9か国での研究¹⁰⁾では、貯蔵脂肪中のトランス脂肪酸量と心疾患の間に有意な相関は認められていないなど、トランス脂肪酸が心疾患の原因とする根拠は十分ではない。これについては、2007年に奥山¹⁰⁾が本誌において詳しく解説している。最近、日本人の女子大学生を対象にした新たな論文¹¹⁾も発表され、トランス脂肪酸の摂取量の高い人ほど腹囲が大きく、血中の中性脂質やHbA1c値(高血糖指標の1つ)が高い傾向が報告された。その他の追加論文¹²⁾も報告されているが、現在においてもまだ明確な結論を導き出すには至っていない。果たして本当に食品中のトランス脂肪酸含量表示の義務化が必要なかどうか、引き続き慎重な科学的検証が必要である。

3. ジアシルグリセロールとグリシドール

エコナ油の製造販売が中止された理由は、体内で発がん性物質に変わる恐れのあるグリシドール脂肪酸エステル(図1(B))が一般の油より多く含まれていることが分かったためである。その後、食品安全委員会を中心に検討が継続して行われているが、販売中止から1年以上経った現時点でも、はっきりした結論はまだ出されていない。

トリアシルグリセロールが主成分の通常の食用油と違って、エコナ油はジアシルグリセロール(図1(C))が約80%を占めることを特徴とする。ただし、コーン油やオリーブ油などの食用油にも3~6%程度のジアシルグリセロールが含まれる。ジアシルグリセロールには、血中の中性脂肪の上昇抑制効果や体脂肪低減作用があることから、トクホが認められた。

以前より基礎生化学の分野では、ジアシルグリセロールの一種はプロテインキナーゼC(PKC)を活性化することが知られていた。また、トウダイグサ科の植物から抽出されるフォルボールエステルは、PKCを活性化して発がんプロモーション作用を示すことも広く知られていた。経口摂取したジアシルグリセロールは消化吸收過程を経るため、試験管内や細胞レベルの実験のようにそのまま細胞のPKCに作用するとは考えられないが、ジアシルグリセロールが高濃度含まれる食用油の安全性については、今後も慎重に評価される必要があるとされている。すなわち、エコナ油の安全性評価には2つの観点、高濃度ジアシルグリセロールとグリシドール脂肪酸エステルの両方の発がん性問題がある。

グリシドール脂肪酸エステルは、エコナ油の脱臭工程で生成される。グリシドール脂肪酸エステルそのものに発がん性を示す報告はないが、発がん性があるとされているグリシドールに体内で変化する可能性が指摘されており、現在、この点が検討されている。最近、花王は、グリシドール脂肪酸エステルを大量に与えたラットでは、血中にグリシドールが検出されることを示した。しかしその投与量は人の通常摂取量の4,600倍と多く、また実際の細胞への吸収量も不明であり、まだ評価が難しい。より少量をサルへ与えた場合には、血中にグリシドールは検出されないとの報告も出されているが、ヒトへの有害性・安全性について更に深い検討が必要である。食品安全委員会では、今後、グリシドール脂肪酸エステルおよびグリシドールに関する議論を先行させ、その後、高濃度ジアシルグリセロールを含む食品の安全性についても議

論を行うとしている。¹²⁾

エコナ問題でも、トクホ制度を巡る多くの課題が浮き彫りになった。安全性に疑問が生じたトクホ製品について、その表示許可を取り消そうにも新たな科学的データが十分にそろわないと取り消せない。取り消し検討の基準すらない。メーカー側の危機管理に基づいた自主性に依存しているのが実情である。消費者庁は、トクホ商品を扱う企業に新しい科学データを収集して報告するしくみなどを整備するなど、トクホの運用改善によりやく力を注ぎ始めた。

4. その他の問題成分

最近、アラキドン酸を豊富に含むサプリメントが市場に出回るようになった。アラキドン酸の摂取量は通常の食事からは限られており、同じ $\omega 6$ 系列のリノール酸を摂取して体内で代謝制御を受けながら部分的にアラキドン酸に変換する。アラキドン酸は重要な脂肪酸であり、各種エイコサノイドに変換されるなどして、生殖、成長、脳機能にも深くかかわっている。一方で、 $\omega 6$ 系列脂肪酸(主にリノール酸)の過剰摂取は、炎症・アレルギー、がん、心疾患などの各種疾患を促進することが分かってきた。¹³⁾ アラキドン酸を未熟児用粉ミルクに添加することの安全性に関しては、世界的に認められているところである。しかし、成人に多量のアラキドン酸をサプリメントとして補給することの安全性については、検討が不十分である。アラキドン酸の補給が脳機能を向上させるとの動物実験¹⁴⁾や臨床試験¹⁵⁾の報告があるが、一方で最近の報告によると、アラキドン酸強化食を与えたマウスでは生まれた雌胎仔に高頻度で眼奇形が認められた。¹⁶⁾ アラキドン酸摂取の安全性について、今後更に慎重な検討が必要であろう。

数種の植物油(カノーラ菜種油、オリーブ油、高オレイン酸紅花油、月見草油、ゴーン油など)が、脳卒中易発症性高血圧自然発症(SHRSP)ラットの寿命を短縮させることが報告されている。¹⁸⁾ 植物油を加水分解して遊離脂肪酸画分(植物ステロールを含む)にしたところ、作用は消失あるいは減弱したので、脂肪酸や植物ステロール以外の微量有害成分の存在が推定されているが、いまだ同定はされていない。この因子は腎臓、脾臓、脳、血管などに病変を起し、血小板数を減らす。また多くの遺伝子発現に影響を及ぼし、精巣テストステロンレベルを低下させる。これらの作用の一部は、ブタでも認められている。これらの因子が人の健康に影響を及ぼすかどうかはまだ分かっていないが、今後の更なる解析が待たれる。

油脂には高度不飽和脂肪酸を含むものも多く、空気中の酸素による自動酸化によって生成する脂質過酸化物の中には有害なものも含まれる。したがって、油脂製品の製造・加工、流通・保管においては、抗酸化物の添加や製法の工夫、さらには容器や保存法を工夫することにより過酸化を防ぐ努力がなされている。一方で、消費者が家庭や外食産業において、食用油の長期間の使い回しや誤った保管をしないような指導が必要かも知れない。

5. おわりに

食品は単に燃料分子を補給するためだけではなく、その成分中には複雑な生体機能を調節するための重要な物質も多く含まれる。医食同源の言葉が表すように、健康を維持するために食品の果たす割合は大きく、油脂製品においてもそれが当てはまる。食品と医薬品、そしてその中間に位置するトクホなど機能性食品分野が、今、社会的にも注目されている。健康増進に役立つ食品開発の結果として、天然物の場合とは異なって、特定の成分が濃縮されたり特別な加工が施されることになり、人類がこれまで経験していない新たな食環境が生まれている。そこには未知の有害成分が隠れている可能性もあり、安全性に関して常に新しい科学データに基づい

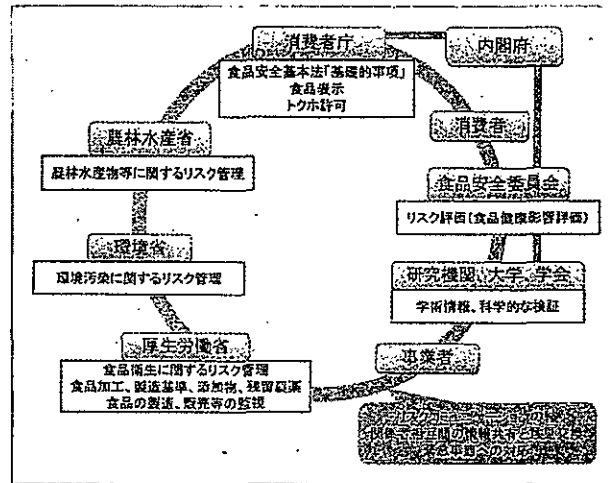


図2 食品の安全にかかわる行政機関と社会との連携

たりリスク評価がなされなければならない。そのためには、行政機関、学会、企業、消費者などが協力し合ってリスクコミュニケーションを潤滑に行う必要がある。現在、図2に示すような社会的な連携体制が組まれているが、トランス脂肪酸やエコナ油騒動を見ても、まだ十分に機能しているとは思えない。本当に安全な食品を安心して食べることができ、その結果として世界一の長寿国を維持していけるように、内閣府を中心とした政府や行政機関の指導力に期待したい。安全だけでなく安心するためには情報開示が重要である。幸いなことに、インターネットを介した情報開示は進んでおり、本稿を執筆するに当たっても各省庁のホームページが大いに参考になった。

最後に、医薬品とは違って食品には様々な未知の微量成分も含まれる。よく言われることではあるが、同じ食品ばかりを極端に偏って摂取せずに様々な食材をバランス良く食べることが、食の安全性対策の1つかも知れない。

参考文献

- 1) 消費者庁「トランス脂肪酸」ファクトシート <http://www.fsc.go.jp/sonota/54kai-factsheets-trans.pdf>
- 2) 日本人の食事摂取基準—厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書(2010年版), <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/05/s0529-4.html>
- 3) 農林水産省 トランス脂肪酸に関する情報 http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans_fat/
- 4) 消費者庁 トランス脂肪酸に関する情報 <http://www.caa.go.jp/foods/index5.html>
- 5) 食品安全委員会「トランス脂肪酸」ファクトシート <http://www.fsc.go.jp/sonota/54kai-factsheets-trans.pdf>
- 6) 川畑輝江ほか、日本栄養食糧学会誌. 61, 161-168(2008).
- 7) Yamada M. et al., *J. Epidemiol.*, 20, 119-127(2010).
- 8) Oh K. et al., *Am. J. Epidemiol.*, 161, 672-679(2005).
- 9) Aro K. et al., *Lancet*, 345, 273-278(1995).
- 10) 奥山治美, *ファルマシア*, 43, 332-336(2007).
- 11) Yamada M. et al., *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 18, 359-371(2009).
- 12) Mozaffarian D. et al., *Eur. J. Clin. Nutr.*, 63, 5-21(2009).
- 13) 食品安全委員会 高濃度にジアシルグリセロールを含む食用油等に関する情報 http://www.fsc.go.jp/sonota/dag/dag_index.html
- 14) Okuyama H. et al., *Prog. Lipid Res.*, 35, 409-457(1997).
- 15) Maekawa M. et al., *PLoS One*, 4, e5085(2009).
- 16) Ishikura Y. et al., *Neuropsychobiol.*, 60, 73-79(2009).
- 17) Maekawa M. et al., *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 402, 431-437(2010).
- 18) Tatematsu K. et al., *J. Nutr.*, 134, 1347-1352(2004).

DHA・EPAによる メタボリックシンドロームと 認知症の予防・改善



鈴木 平光 (すずき ひらみつ)

女子栄養大学栄養学部教授。1949年埼玉県生まれ。東京水産大学、群馬大学大学院修了、博士(医学)。2006年より現職。専門は水産食品栄養学および衛生学。90年世界初のDHAシンポジウムでコーディネーターを務めた後、一貫してDHAの脳機能維持改善効果に関する研究に従事する。主な著書に「魚を食べると頭が良くなる」(KKベストセラーズ)、「水産食品栄養学」(技報堂出版)など。

東京都内の事業所に勤務する40歳以上の男女への魚油摂取試験の様子。魚油カプセルか、対照カプセルかを選択し、腹囲や血圧測定、採血を行う。

今や、わが国は超高齢社会になりつつあり、これからの20年間は高齢者が益々増える社会になる。私たちの体は加齢に伴い、メタボリックシンドローム(メタボ)や認知症になりやすくなる。メタボは動脈硬化症、心臓病、脳卒中などの循環器系の疾患を起しやすくなる。魚食と循環器系疾患との関係については、本誌2007年7月号「魚食と循環器系疾患の関係～「血液サラサラ効果」の実際」でもまとめたように、欧米人のデータが多く、日本人のデータは限られている。また、認知症は高齢者の多くが最も嫌う病気だが、魚食と認知症との関係については、データが少ないのが現状である。

そこで以下では、魚食や魚油の摂取が日本人のメタボ危険因子や認知症に及ぼす影響を検討した研究の一部を紹介し、さらに、これらの疾患の予防・改善のためには、どのように魚を食べたら良いのかを解説する。

メタボリックシンドロームの予防・改善

メタボリックシンドローム(メタボ)とは?

メタボとは内臓脂肪症候群のことで、皮下脂肪よりも内臓脂肪が多くなるのに加えて、血液中の中性脂肪(エネルギーを体内に貯蔵する形態。皮下脂肪はほぼ中性脂肪からできている)が高かったり、HDL-コレステロール(いわゆる善玉コレステロールで、コレステロールを末梢組織から肝臓へ運ぶ。逆に、コレステロールを肝臓から末梢組織へ運ぶのが、いわゆる悪玉コレステロールと呼ばれるLDL-コレステロールである)が低かったり、血圧や血糖値が高いという危険因子が2項目以上ある場合を

言う。メタボでは、動脈硬化症、心筋梗塞、狭心症、脳梗塞などの循環器系の疾患になりやすい体質になる。内臓脂肪もこれらの危険因子も、ともに食生活と深い関係がある。

メタボの診断基準は表1に示した通り(女性の腹囲については90cm以上で良いか否か検討中)であり、現在、わが国の40歳以上の男性の2人に1人が、また、女性の5人に1人がメタボまたはその予備軍である。このような現状をふまえて、40～74歳の公的医療保険加入者全員を対象とした特定健診・特定保健指導が

2008年4月より行われている。

魚食(DHA・EPA)とメタボ危険因子¹⁾

メタボと食生活との関係では、日本型食生活の特徴になっている魚介類には、内臓脂肪と関係がある体重や腹囲に影響する成分は認められない。しかし、その脂肪(魚油)には、ドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)が豊富に含まれており、これらの脂肪酸の摂取と血漿(血液に含まれる液体成分で、黄色く透明で血液の55%を占める)脂質、血圧、血糖との関係については、かなり多くの研究成果が発表されている。特に、動物実験の結果が多く、ヒトを対象とした研究では主として欧米での疫学調査や介入(摂取)試験の結果が知られている。

マウスを用いて、DHAやEPAと血漿脂質との関係を調べた実験では、DHAやEPAの摂取により、血漿中の中性脂肪、総コレステロールおよびリン脂質濃度の低下が認められている²⁾。

ヒトを対象とした疫学研究でも魚食や魚油の摂取と血液中的中性脂肪やHDL-コレステロール濃度との関係が報告されている。例えば、南インド沿岸の住民の調査では、魚を食べる人は食べない人に比べ、血清(血液凝固成分が消失または著しく減少した血漿)中性脂肪や総コレステロール濃度が低い³⁾。また、その他の調査でも、魚を食べる人は食べない人に比べ、LDL-コレステロール/HDL-コレステロールの比や総コレステロール/HDL-コレステロールの比が明らかに低いことやHDL-コレステロール濃度が高いことが明らかにされている⁴⁾。

魚食と血圧との関係についても、比較的多くの研究発表があり、動物実験では収縮期(心臓が血液を送出した時。これに対し、血液を吸入した時を拡張期という)血圧の低下が多く認められている⁵⁻⁹⁾。疫学研究では、魚食の頻度と血圧との間に相関関係が無いという結果が見られるが、魚油やDHA・EPAエチルエステルを高血圧症患者に多めに与えた試験では、収縮期およ

表1 メタボリックシンドロームの診断基準

必須項目	内臓脂肪蓄積 ウエストサイズ (内臓脂肪面積 男女とも $\geq 100\text{cm}^2$ に相当)	男性 $\geq 85\text{cm}$ 女性 $\geq 90\text{cm}$
選択項目 (これらの項目のうち2項目以上)	① 高中性脂肪血症 かつ/または 低HDLコレステロール血症	$\geq 150\text{mg/dl}$ $< 40\text{mg/dl}$
	② 収縮期(最大)血圧 かつ/または 拡張期(最小)血圧	$\geq 130\text{mmHg}$ $\geq 85\text{mmHg}$
	③ 空腹時高血糖	$\geq 110\text{mg/dl}$

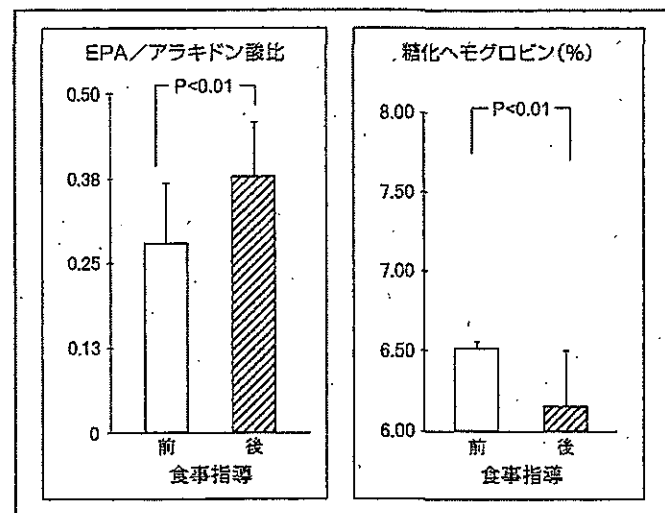


図1 日本人のⅡ型糖尿病患者の血清脂肪酸および糖化ヘモグロビンに及ぼす食事指導の影響¹⁰⁾

び拡張期の血圧の低下が認められている⁷⁾。

さらに、魚油と血糖との関係についても多くの動物実験が行われ、魚油の摂取により、血糖が低下することが明らかになっている⁸⁾。ところが、魚食や魚油摂取と血糖に関する疫学研究は少なく、魚を食べる人では食べない人に比べ、耐糖能異常(糖尿病など、血液中のブドウ糖=血糖を一定に保つ能力の異常)の頻度が低いことや、魚の摂取頻度と糖化ヘモグロビン(ヘモグロビンに糖が結合したもの。高血糖が続くと増え、一度結合すると離れないので、糖尿病の指標に使われる)の割合との間に負の相関があったとの発表が見られるのみである⁹⁾。しかし、魚を多く含む日本の伝統食を4ヵ月間摂取するという食事指導により、糖化ヘモグロビンの割合が減少したとの発表がある(図1)¹⁰⁾。

以上のように、魚食や魚油(DHA・EPA)摂取とメタボ危険因子との関係については、多くの研究が行われており、魚食(DHA・EPA)の頻度が高い場合には、血液中の中性脂肪の低下やHDL-コレステロールの増加と血圧の低下傾向が期待できる。しかし、ヒトの血糖については、未だ不明な点が多い。

漁村住民と農村住民の比較

わが国の漁村と農村住民の健康状態を比較した最初の疫学研究は、千葉大学医学部の研究グループにより約30年前に行われている(本誌2007年7月号参照)¹⁾。この研究では、農村住民に比べ、漁村住民の方が魚食の頻度が高く、血液中のDHAやEPAの割合が極端に多くなっており、循環器系疾患での死亡率も少ないことが明らかにされている。最近、筆者らは、漁村住民として銚子市およびその近隣の住民を、農村住民として前橋市の住民を選び健康状態の比較を行ってみた。その結果、前述の千葉大学による研究結果ほど明確な差は見られなかったが、漁村住民の方が農村住民よりも、1週当たり1回程度魚食が多く、統計的な差が認められている。また、漁村住民の方が血液中のDHAやEPAの割合は高く、中性脂肪等の脂質成分は少ない傾向が認められている¹²⁾。この結果は、近年の経済発展や食品の流通システムの改善などにより、漁村や農村の住民の食生活が変化し、漁村では魚食の頻度が低下し、農村では魚食の頻度が上昇したためと考えられる。

そこで、次に、漁村住民の中から1日1回以上魚を摂取する人を選び、また、農村住民の中から魚の摂取頻度が低い人を選んで、耐糖能試験を行った。耐糖能試験とは、空腹時に、75gのブドウ糖が入った水溶液を飲み、その前から2時間後までの間に血糖値がどのように変化したかを測定して、糖の処理能力を見るものである。すなわち、血糖が正常域を超えて高ければ、糖の処理能力が悪く、糖尿病と診断される。漁村および農村住民での耐糖能試験の結果は、両者とも正常域にあったが、魚食の多い漁村住民の方が魚食の少ない農村住民よりも血糖値が低い傾向を示し、血糖の処理能力が高かった(図2)¹²⁾。このことは、魚食の頻度が高いほうが、血糖上昇抑制能が高く、糖尿病や

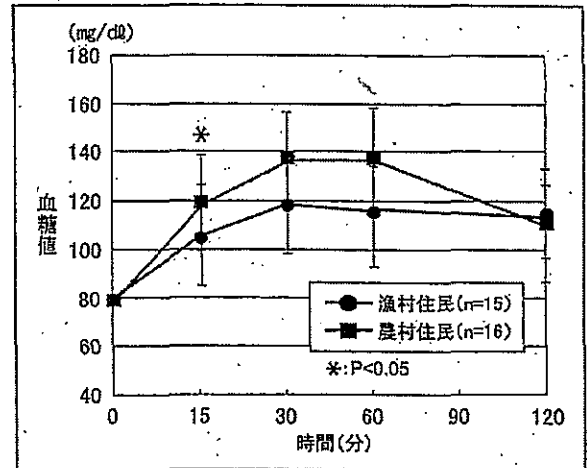


図2 漁村住民(平均8.8回/週の魚食)および農村住民(平均4.4回/週の魚食)の耐糖能試験の結果¹²⁾

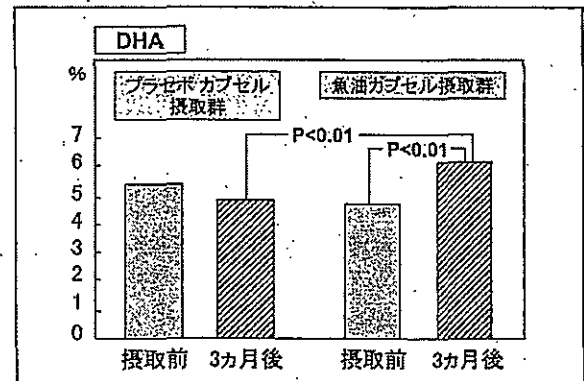


図3 魚油またはプラセボカプセルを摂取した被験者の血漿総脂肪酸に占めるDHAの割合¹²⁾

メタボになりにくいことを示している。

これらの調査研究から、日本人においても、魚食の頻度が高い人では、メタボになりにくく、循環器系の疾患にもなりにくいと思われる。

メタボ危険因子に及ぼす魚油摂取の影響

魚油の摂取は、メタボの危険因子である高脂血、高血圧、高血糖の予防・改善に役立つ可能性が、魚食の少ない欧米人による介入試験で示されている。しかし、欧米人に比べて、魚食の多い日本人での介入試験はほとんど行われておらず、日本人においては魚油の摂取がメタボの予防・改善に有効か否か不明であった。そこで筆者らは、東京都内の事業所に勤務する40歳以上の男女49名の協力を得て、魚油(DHA約700mg

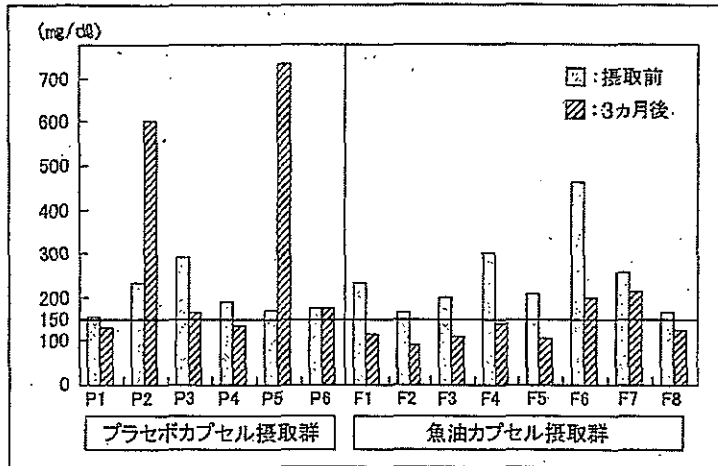


図4 摂取前の血漿中性脂肪濃度が150mg/dL以上の方の3ヵ月後の変化 (P1~6: プラセボ群の被験者、F1~8: 魚油群の被験者)¹³⁾

およびEPA約200mg含有)またはプラセボ(ハイオレインサフラワー油)カプセルを用いた二重盲検法(摂取している被験者の方も、与えている方も、検査する方も、どちらのカプセルを摂取しているかわからないようにして行い、先入観を除く方法)による3ヵ月の介入試験を行った¹³⁾(26頁写真)。まず初めに、被験者の食事内容を調査したところ、魚油カプセル群の方々もプラセボカプセル群の方々も、ともに魚食は週に6~7回で差がなかった。また、血漿中のDHAやEPAの割合についても、摂取前は差が認められなかった。しかし、介入試験終了時には、魚油カプセル摂取群でDHAもEPAも、その割合が明らかに上昇していた(図3)。両群を比較したとき、魚油カプセル群で血漿中の中性脂肪、総コレステロールおよびリン脂質が低下傾向を示していたが、統計的な差としては認められなかった。この理由

表2 メタボリックシンドロームと診断された人数の変化¹³⁾

	摂取前	3ヵ月後
プラセボカプセル群	4人	4人
DHAカプセル群	6人	2人

として、血漿脂質の測定項目は、個人差が大きいため、その影響が大きく出ていると考えられた。

そこで、次に、各個人の変化を数値化し、魚油とプラセボカプセル摂取群間で比較してみた。その結果、魚油カプセル群で中性脂肪およびリン脂質濃度

の低下が認められたのみならず、肝機能の指標も改善傾向にあることがわかった。また、魚油カプセル摂取群では、試験開始時に中性脂肪が基準値(150mg/dL)以上の人が8名いたが、そのすべてで低下し、6名は基準値以内に改善した(図4)。さらに、肝機能が悪い人では中性脂肪の濃度も高い傾向にあった。総合的には、メタボの人は魚油カプセル群で6名おり、そのうち4名が改善したが、プラセボカプセル群では、メタボの人(4名)の改善は認められなかった(表2)。これらのことから、魚油のDHAやEPAは、肝機能を改善することにより、高脂血を改善し、メタボの予防・改善に役立つことが考えられる。

以上の介入試験からも、魚食の頻度が高いほど、日本人もメタボになりにくく、循環器系疾患にもなりにくいと思われる。

認知症の予防と進行抑制

認知症と超高齢社会

現在、わが国の65歳以上の人口は20%を超え、高齢社会から超高齢社会に突入しつつある。西暦2050年には、高齢化率が35.7%になると予測されており、日本人の3人に1人は65歳以上と言われている。また、これからの20年間は75歳以上の人口が倍増する時代であると考えられている。このような超高齢化により、現在約180万人と言われている認知症の患者数は、

2020年には300万人に増えると推測されている。

筆者が平均年齢70歳の方々を前に講演したとき、加齢に伴いなりやすくなる病気はいろいろあるが、一番なりたくない病気は何かと尋ねると、80~90%の方が「老人性認知症」と答える。その理由は、家族に迷惑をかけたくないということである。

老人性認知症の原因を大きく2つに分けると、脳血管型とアルツハイマー型になる。脳血管型の認知症に

については、脳梗塞や脳出血の予防、すなわち、メタボの予防・改善ができれば脳血管疾患になりにくくなるので、ある程度予防が可能である。しかし、アルツハイマー型や原因不明の認知症の場合、予防法や治療法がないのが現状である。筆者らは、脳の栄養という面からの抗認知症研究に二十数年前に着手した。そして、現在までに、動物を用いた基礎実験からヒト介入試験まで行ってきたので、次に、その一部を紹介しながら、魚食と認知症について解説する。

魚油(DHA)と脳の健康

魚油に豊富に含まれるDHAは、ヒトや動物の脳にも比較的多く含まれている。そして、ヒトや動物が魚油を摂取した場合、DHAは消化吸収過程で分解したり、変化することはなく、そのまま吸収され、血液中を介して脳神経細胞内にも取り込まれ、その細胞内の膜を形成する成分となる。さらに、DHAは脳神経細胞の維持においても必要であり大切な成分である¹⁴⁾。

したがって、DHAは子供の脳神経系の発達にとって重要であるだけでなく、高齢者の脳神経系機能の維持・増進にも大切なものである。一方、高齢動物やアルツハイマー型認知症の人では脳内のDHAの割合が減少する傾向にあるとの報告がある¹⁵⁾。そこで、高齢動物を用いた魚油摂取試験を行ってみた結果、脳内でのDHAの増加、脳細胞膜の流動性の向上、酸化ストレスの低下を伴う記憶学習能の改善が認められている¹⁶⁻¹⁷⁾。このように、DHAには、老人性認知症の予防および症状の改善効果がある可能性が動物実験により示されている。

魚油摂取と認知症の予防および症状改善

魚食と認知症との関係については、魚食が多いほど老人性認知症になりにくいという平山による疫学調査がある¹⁸⁾。また、最近でも、海外で同様な結果が発表されている¹⁹⁾。

この10年間に、老人性認知症患者や高齢者での魚油摂取試験がわずかではあるが行われている。筆者らは、特別養護老人ホームでボランティア(平均年齢78歳)を募集し、魚油の摂取試験を行ってみた。このとき、30名(認知症22名、非認知症8名)に、魚油約

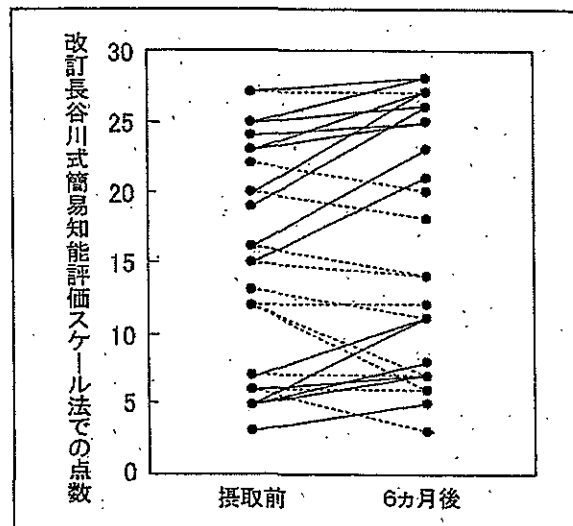


図5 魚油摂取による高齢者の認知度の変化²⁰⁾

3g(DHAを640~800mg含有)を毎日、6ヵ月間、味噌汁に入れて摂取してもらい、摂取前と6ヵ月後に改訂長谷川式簡易知能評価スケール法で認知度を測定した。その結果、この6ヵ月の間に、知能評価スケール法による点数(30点満点)が上昇した人は18名、変わらなかった人が3名、低下した人が9名で、7点以上上昇した人が3名、5~6点以上上昇した人が5名であった(図5)²⁰⁾。すなわち、特別養護老人ホームに入居している高齢者の場合、6ヵ月の間に認知度が低下する人が多いが、このように約3gの魚油を通常の食事にプラスすることで30名中21名に認知度の改善および低下の抑制が見られた。また、この結果は、魚油(DHA)の摂取が老人性認知症の予防にも役立つ可能性を示している。

最近では、魚油を約3g含むヨーグルト(内容量100g/個、DHAを600mg含有)を用いた、特別養護老人ホームのボランティア(平均86歳)による摂取試験も行っている。このときは、魚油含有ヨーグルトとプラセボ(ハイオレインサフラワー油含有)ヨーグルトを使って、6ヵ月間の摂取試験を二重盲検法により行った。魚油ヨーグルトを食べた方々のDHA源は、通常の食事で得られるもの+ヨーグルト摂取によるもの(約1440mg)であり、プラセボヨーグルトを食べた方々では、通常の食事で得られるもの(約840mg)だけである。この違いがどの程度、認知度に影響するのであろうか。

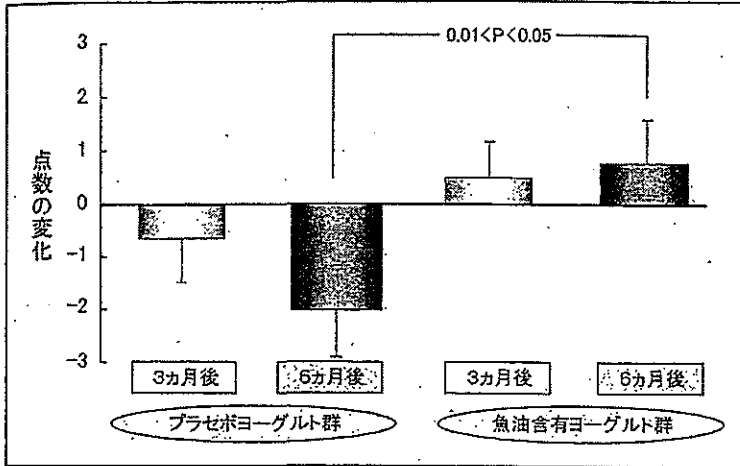


図6 高齢者の認知度に及ぼす魚油含有ヨーグルト摂取の影響(改訂長谷川式簡易知能評価スケール法による点数の変化)²¹⁾

以前と同様に、改訂長谷川式簡易知能評価スケール法を用いて、摂取前、3ヵ月目、6ヵ月目に認知度の測定を行った。その結果、3ヵ月目までは魚油ヨーグルトの人たちとプラセボヨーグルトの人たちとの間には明確な差がなかったが、6ヵ月目には魚油ヨーグルト摂取の人たちは点数の上昇が認められるのに対し、プラセボヨーグルト摂取の人たちは点数が低下し、認知症状が進む傾向が認められた(図6)²¹⁾。この結果から、魚油ヨーグルトを毎日1個摂取すること(通常の食事からのDHAに600mgのDHAを強化)により、認知症の症状が若干改善されるとともに、その進行が抑制でき、認知症の予防にもつながると思われる。

さらに、アルツハイマー型および脳血管型の認知症患者に、1日当たり700~1400mgのDHAを与えた群馬大学の宮永らによる介入試験においても、18名中10名に認知症の症状改善が見られている²²⁾。また、日本型食生活の特徴である魚(魚油)と緑茶の摂取を多めにするだけでも認知症の症状改善が認められている²³⁾。

メタボや認知症を防ぐ魚の食べ方

DHAやEPAを豊富に含む魚としては、本誌2007年7月号¹⁾の表2で示した通り、アンコウの肝、マグロの脂身、ブリ、サバ、サンマ、イワシ等が挙げられる。もちろん、生で食べれば、DHAやEPAを100%摂れるが、調理しても80%以上は摂れる。また、缶詰や干物等の

加工品でも80%以上摂ることができる。さらに、DHAやEPAは非常に吸収率が良いことがその特徴である。

従来、DHAやEPAについての公の摂取基準は示されて来なかった。しかし、厚生労働省「日本人の食事摂取基準」2010年版(本年4月から適用)では、初めて公に魚食(DHA・EPA)について言及し、18歳以上の人については、1日当たりDHA+EPAで1000mg以上、魚で約90g以上が望ましいとしている。筆者らは、20年ほど前から、1日1度の魚食、すなわち、1日当たりDHAを1000mg以上摂取することを勧めており、「日本人の食事摂取基準」はほぼ同様の内容となっている。しかし、前述の日本人での抗メタボや認知症予防に関する試験結果からすると、DHAやEPAの有効性を早期に期待したい場合には、その1.5倍程度摂取した方が良いと思われる。

参考文献

- 1) 鈴木平光(2007): 魚食と循環器系疾患の関係―「血液サラサラ効果」の実際―, アクアネット10(7), 32-36.
- 2) H. Suzuki, et al. (1995): Fish. Sci., 61(3), 525-526.
- 3) G. Bulliyya (2000): Clin. Nutr., 19(3), 165-170.
- 4) G. Bulliyya (2002): Asia Pac. J. Clin. Nutr., 11(2), 104-111.
- 5) A.H. Lichtenstein and A.V. Chobanian (1990): Arteriosclerosis, 10(4), 597-606.
- 6) S.L. Pfister, et al. (1989): Eur. J. Pharmacol., 161(1), 85-89.
- 7) H.R. Knapp and G.A. FitzGerald (1989): N. Engl. J. Med., 320(16), 1037-1043.
- 8) T. Higuchi, et al. (2006): Ann. Nutr. Metab., 50(2), 147-154.
- 9) E.J. Feskens, et al. (1991): Diabetes Care, 14(11), 935-941.
- 10) T. Hasegawa and M. Oshima (1999): Diabetes Res. Clin. Pract., 46(2), 115-120.
- 11) 鈴木平光ら(2008): 脂質栄養学, 17(2), 140.
- 12) 鈴木平光ら(2008): 日本油化学会第47回年会講演要旨集, p.223.
- 13) 鈴木平光ら(2010): 脂質栄養学, 19(2), 印刷中.
- 14) 鈴木平光・和田 俊・三浦理代編(2004): 水産食品栄養学, 技報堂出版, p.135-137.
- 15) M. Söderberg, et al. (1991): Lipids, 26(6), 421-425.
- 16) H. Suzuki, et al. (1989): Mech. Aging Dev., 50(1), 17-25.
- 17) S. Gamoh, et al. (2001): Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 28(4), 266-270.
- 18) 平山 雄(1992): 中外医薬, 45, 157-162.
- 19) E. Albanese, et al. (2009): Am. J. Clin. Nutr., 90(2), 392-400.
- 20) H. Suzuki, et al. (2001): World Rev. Nutr. Diet., 88, 68-71.
- 21) 鈴木平光ら(2007): 脂質栄養学, 16(2), 156.
- 22) 宮永和夫ら(1995): 臨床医薬, 11(4), 881-901.
- 23) 鈴木平光, 森川洋一(2005): 脂質栄養学, 14(2), 155.

解説 ここが知りたい!

必須脂肪酸の摂取基準の現状

女子栄養大学 栄養学部 実践栄養学科 食品生産科学 鈴木平光・山田麻未

1. はじめに

食品中の脂質には、数～80%程度の必須脂肪酸が含まれている。とくに油脂類には、必須脂肪酸が多いものがある¹⁾。必須脂肪酸に関する研究は、この半世紀の間に著しい進歩を遂げ、その成果の一部は食事摂取基準²⁾に反映されている。従来、欠乏症の予防・改善という観点から進められていた必須脂肪酸の栄養学が、近年になって、少し多めに摂取したときの健康効果に焦点が移り、生活習慣病の予防・改善という面から注目されている。必須脂肪酸には、狭義と広義の定義があるが、最近では広義に捉えることが一般的になりつつある。

ここでは、必須脂肪酸とは何か(定義)、諸外国の摂取基準、国際学会での推奨摂取量、日本人における摂取基準(18歳未満は割愛)について解説する。また、筆者らが実施してきた魚油摂取試験からわかってきた摂取量に関する知見等についても簡単に触れる。

2. 必須脂肪酸とは

必須脂肪酸とは何かということで調べてみると「人体内で生合成されないため、食物から摂取しなければならない脂肪酸」(三省堂 大辞林)、「ヒトが体内合成できないため、外部から食物として摂取する必要がある脂肪酸の総称」(生物学用語辞典)、「動物がその体内で合成できない、あるいは合成量が足りない脂肪酸は、食物から摂取しなければならないので必須脂肪酸とよばれる。」(油化学辞典)、「体内で他の脂肪酸から合成できないために摂取する必要がある脂肪酸の総称」(ウィキペディア)となっている。それぞれ表現は若干違うものの、われわれの体内で一から作ることが出来ないため、食物から摂取しないと、健康の維持にとって問題が生じること(欠乏症)が知られている脂肪酸ということである。

必須脂肪酸は狭義には、リノール酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸を指すが、広義にはそれらの脂肪酸にイコサペンタエン酸(IPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)を加えている。一般には、IPAはエイコサペンタエン酸(EPA)といわれている。これらの脂肪酸は、n-3(ω 3)系列とn-6(ω 6)系列に分類される。 α -リノレン酸、EPA、DHAはn-3系列、リノール酸とアラキドン酸は

n-6系列である。n-3やn-6はその分子構造の中の二重結合の位置の違いを示しており、ここでnは炭素数を示し、カルボン酸基側から数えてn-3番目の炭素のところ到最后の二重結合がある脂肪酸をn-3系列とし、同様にn-6番目の炭素のところ到最后の二重結合がある脂肪酸をn-6系列としている。そして、リノール酸はC_{18:2} n-6、 α -リノレン酸はC_{18:3} n-3、アラキドン酸はC_{20:4} n-6、EPAはC_{20:5} n-3、DHAはC_{22:6} n-3と表わされる。

ヒトがn-3系列の α -リノレン酸を摂取すると、ごくわずかではあるが、EPAやDHAが合成される。また、同様にn-6系列のリノール酸を摂取すると、アラキドン酸ができる。そして、EPAやアラキドン酸からは種々の生理活性があることで知られるエイコサノイドが生合成される。また、n-3系列とn-6系列の脂肪酸の割合が生活習慣病の発症とも関係しているとのデータも発表されている³⁾。

3. 諸外国の必須脂肪酸の摂取基準

諸外国では、脂肪を含めた食事摂取基準を定めている。とくに脂肪は熱量が高いため、肥満との関係から欧米諸国で注目されている。そして、諸外国では、各国の生活習慣なども考慮して、具体的な食生活指針や食事ガイドが公表されている⁴⁾。しかし、個々の必須脂肪酸の摂取基準について公表している国は少ない。

一方、国際脂肪酸脂質学会(ISSFAL)では、2005年に、世界で初めて、個々の必須脂肪酸の総摂取量についての勧告を行なった。n-6系列のリノール酸は2%エネルギー(2000 kcalのヒトで4.4 g)とし、n-3系列の α -リノレン酸は0.7%エネルギー(2000 kcalのヒトで1.6 g)、EPA+DHAは500 mg/日以上としている。また、WHO/FAO(2003年)では、n-6系列の脂肪酸は5~8%エネルギー(2000 kcalのヒトで11~18 g)、n-3系列の脂肪酸は1~2%エネルギー(2000 kcalのヒトで2.2~4.4 g)を勧告している。

アメリカにおける食事摂取基準(2010年)⁵⁾では、EPA+DHAは250 mg/日と勧告しているが、この際、メチル水銀含量が多い魚類を避けることも示されている。さらに、オーストラリアおよびニュージーランドに

おける食事摂取基準 (2006年) では、個々の必須脂肪酸の1日当たりの目安量が示されており、リノール酸は成人男性で13g、成人女性で8g、 α -リノレン酸は成人男性で13g、成人女性で0.8g、DHA+EPA+DPA (ドコサヘンタエン酸) は成人男性で160mg、成人女性で90mgとしており、成人男女ともDHA+EPA+DPAの耐容上限量を3gとしている⁴⁾。

したがって、アメリカやオーストラリアおよびニュージーランドの摂取基準では、生活習慣病の予防効果が注目されているDHA+EPAの1日あたりの摂取量は低く設定されているのが現状であり、2005年のISSFALの勧告以下になっている。

4. 日本人における必須脂肪酸の摂取基準 (Table 1)

わが国では、厚生労働省から公表された「日本人の食事摂取基準」(2010年版)²⁾ に必須脂肪酸の摂取基準が示されている。この食事摂取基準では、13段階の年齢区分を設定している。また、目安量についてはn-6系列の場合、男性で8~11g/日、女性で7~9g/日と示されているが、n-3系列の場合、目安量は設定されていない。さらに、n-6系列では18歳以上で男女とも、10%エネルギー未満を目標量としており、n-3系列の場合は、男性で2.1~2.4g/日以上、女性で1.8~2.1g/日以上としている。なお、DHA+EPAについては、18歳以上の男女とも、目標量は1g/日以上が望ましいとしている。これは、冠動脈疾患だけでなく、脳梗塞、加齢黄斑変性症に対しても予防効果を示す可能性が高いことやアレルギー性鼻炎、骨密度、認知能に関しても良い効果があるかもしれないことから、この摂取基準が設定されている。

わが国のDHA+EPAの摂取基準は、ISSFAL、アメリカ、オーストラリアおよびニュージーランドよりも多い値となっている。これは日本人の食習慣からして可能な範囲にあると判断されたことによると思われる。

筆者らは、特別養護老人ホームの入居者や都内の事業所および市役所職員に被験者をお願いし、魚油含有食品の摂取試験を数回実施している。その結果、抗認知症効果や抗メタボリックシンドローム効果を期待するのであ

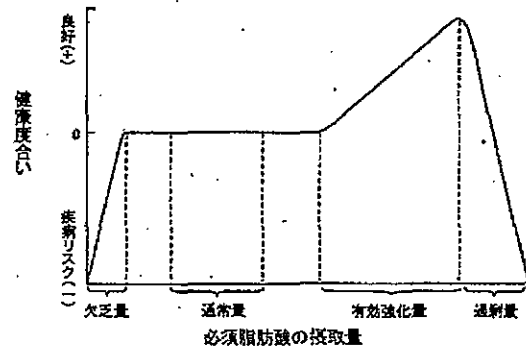


Fig. 1 必須脂肪酸の摂取量と健康度合いの関係

れば、魚介食品由来のDHA+EPAに加えてある程度これらの脂肪酸を摂取することにより、総量としてDHA+EPAを1.5~2.0g/日摂取すると、6ヶ月程度でその有効性が期待できることを示す成果を得ている⁶⁾。

5. おわりに

今回は、必須脂肪酸に焦点を当てて解説したが、その摂取基準は各国により異なっている。一般に、わが国に比べ、諸外国ではDHA+EPAの摂取量を少なく設定しており、日本人では種々の有効性が期待できない量となっている。現在得られている知見を基に、必須脂肪酸の摂取量と健康の度合いとの関係をFig 1に示した。必須脂肪酸の研究は、日進月歩であり、今後の研究の進展によっては、その摂取基準が見直され、DHA+EPAの摂取量については現在よりも高値となるかもしれない。

(連絡先: hsuzuki@eiyo.ac.jp)

文 献

- 1) 香川芳子監修, 食品成分表改訂最新版, 女子栄養大学出版部 (2011).
- 2) 日本人の食事摂取基準 (2010年版), 第一出版 (2009).
- 3) 鈴木平光, 和田 俊, 三浦理代編, 水産食品栄養学-基礎からヒトへ-, 技報堂出版 (2004).
- 4) 藤澤良知, 原 正俊, 新公衆衛生学, 第一出版 (2011).
- 5) USDA, HHS, The 2010 Dietary Guidelines for Americans (2011).
- 6) 鈴木平光, アクアネット, 13 (5), 26 (2010).

Table 1 日本人 (18歳以上) における必須脂肪酸の摂取基準

	年齢(歳)	男 性		女 性	
		目安量	目標量	目安量	目標量
n-6系脂肪酸 (リノール酸 アラキドン酸 等)	18~29	11g/日	10%エネルギー未満	9g/日	10%エネルギー未満
	30~49	10g/日	10%エネルギー未満	9g/日	10%エネルギー未満
	50~69	10g/日	10%エネルギー未満	8g/日	10%エネルギー未満
	70以上	8g/日	10%エネルギー未満	7g/日	10%エネルギー未満
n-3系脂肪酸 (α -リノレン酸 DHA EPA 等)	18~29	-	2.1g/日以上	-	1.8g/日以上
	30~49	-	2.2g/日以上	-	1.8g/日以上
	50~69	-	2.4g/日以上	-	2.1g/日以上
	70以上	-	2.2g/日以上	-	1.8g/日以上

DHA+EPAの目標量としては、1g/日以上摂取することが望ましい。

