

特別講演1

健康と生活習慣病予防における時間栄養学の役割

東北女子大学 健康栄養学科

加藤 秀夫

これまで動物実験とヒト試験から、血中副腎皮質ホルモンと体温のリズム形成には明暗周期よりも摂食周期が優先で、口(消化管)からの摂食とタンパク質・アミノ酸などの栄養性刺激を感知する小腸(空腸)がリズム形成に重要であることを明らかにした。

現代社会は生活スタイルの多様化により夕食時刻が通常より遅くなっている。肝臓における脂肪酸合成酵素(Fasn)の遺伝子発現は、摂食前に低く摂食に伴って増加する日内リズムを形成した。しかし、1日3回の摂食量を同じにして活動開始期(朝)の欠食や非活動期(夜)の摂食によってFasn発現量は著しく増大した。朝食欠食と夜食は肝臓への脂質蓄積を誘発する可能性が考えられる。一方、血糖調節に関連する肝臓グリコーゲンと、持久性活動に不可欠なヒラメ筋(赤筋)のグリコーゲン合成も類似の結果が得られ、規則正しい食生活の重要性を浮き彫りにした。最近では、健康女性を対象に1日のエネルギー摂取量と食事栄養組成を同一にして、呼気ガス分析で異なる摂食パターンにおけるエネルギー代謝と食事誘発性熱産生(DIT)を調べた。1日3食のうち朝食によるDITへの効果が高く、規則正しい食生活と食行動を維持するためには適度の摂食量が重要である。

肝臓および筋肉グリコーゲンは、活動後半期(夕食)に良質タンパク質のカゼインを摂取することにより増加した。逆に、鉄分の吸収(門脈血)は活動開始期(朝食)に良質タンパク質を摂取すると増大した。同様に、代表的な抗酸化物質のリコピン吸収も活動開始期の食餌摂取に伴って増加した。生体内反応(代謝)によって生成される活性酸素は生体に酸化ストレスを与え、動脈硬化やがん化を促進する。食べ物にはリコピンなど抗酸化物質があり、今回は食べ物による抗酸化作用の公開実験を行い、食材と加工食品、サプリメントとの比較を行う。つまり同じ栄養摂取でも摂食時刻の違いと加工によって栄養効果が異なると考えられる。

嗜好性の日内リズムを調べるために、カフェテリア形式でラットに自由摂食させた。摂食増加を栄養別に調べてみると、脂肪分よりも嗜好性の高い砂糖によることが認められた。類似の結果がヒトでも得られ、午前中よりも夕刻に高脂肪・高砂糖の高カロリーの菓子類を好み、嗜好性も1日の時刻によって異なった。

以上のことから、健康づくりと生活習慣病の一次予防には、いつ・何を・どのくらい食べるかの食生活と体内時計との関連が重要である。

(実験アシスタント: 出口 佳奈絵、花田 玲子)

特別講演2

ヒト腸内細菌叢メタゲノム解析と疾病との関連

東京工業大学 生命理工学院
山田 拓司

ヒト腸管内には 1000 種 100 兆個体を超える細菌が共生している。これらの細菌はヒト腸内細菌と呼ばれ、腸管内に群集構造を形成し、複雑なエコシステムをなしている。微生物由来の遺伝子配列を直接決定するメタゲノム解析などの新たな解析手法の開発により、ヒト腸内環境研究は多くの発展を見せ、肥満、糖尿病、炎症性腸疾患、肝臓がんなどの様々な疾患との関連性が明らかになりつつある。

今回、我々は大腸がんに焦点を当て、その発症に関するメカニズムにヒト腸内細菌がどのように関連しているかを明らかにするため、大規模な疫学コホート研究を行っている。その中で収集しているデータとして、ヒト腸内環境のメタゲノムデータに加え、メタボロームデータも収集している。これらの統合解析により、大腸がん発症に関連する微生物、代謝物質、および微生物由来代謝経路を見出す試みを紹介する。

また、メタゲノム解析は大規模な遺伝子配列情報を産出するが、新規遺伝子が数多く存在するため、メタゲノム配列から得られた遺伝子の機能アノテーションをつけることができない場合が多い。そこで、我々はヒト腸内細菌群集に特化した代謝パスウェイデータベース、“Enteropathway” データベースを構築している。このデータベースにより、これまでは機能を類推することが出来なかった遺伝子に対して、遺伝子機能をアノテーションできると期待できる。

ランズ賞 栄養功労賞

DHA の構造的意味 仮説再訪

岐阜大学・工学部 (岐阜大学フェロー・名誉教授)

吉田 敏

【はじめに】

近年、ドコサヘキサエン酸 (DHA; C22:6n-3) を含む ω 3系不飽和脂肪酸の健康栄養的作用への注目が広がり臨床的研究も進み、様々な炎症性疾患などに対して DHA 等の防御的治療の効果が期待されるようになった。しかし、DHA はなぜ網膜、脳神経、精巣により多く含まれるのか、といった昔からの疑問や、DHA の様々な酸化的代謝物の多様な働きがなぜ可能なのか、の基本的な疑問にはまだ明確には答えられていないと思われる。今回は、DHA の構造の持つ意味等について論じたい。

【DHA C22:6n-3 の構造の持つ意味】

細胞膜における DHA など高度不飽和脂肪酸の役割を考える時、2000 年ごろまでは「膜の流動性が上がる」ことで理解しようとしてきたが(流動性仮説)、単純すぎて理解できないことも多くなり、その後生体膜におけるマイクロドメイン形成の重要性が認識され、単純な流動性仮説では DHA の重要性の理解は困難になった。一方、神経シナプスや精子の先体に見られる膜小胞の融合など、また網膜桿体外節の Disk 膜構造形成に DHA が重要な役割をしていることが認識されてきて、膜局部の大きな曲率変化に柔軟に対応できる DHA 構造のもつ柔軟性 (Flexibility/Resilience) にこそ、その重要な意味があるのではないかと考えられた。DHA を含む受容体などの X 線構造解析からも、DHA 自体の構造の柔軟性が示されている。

【DHA 由来酸化的代謝産物の多様性の持つ意味】

歴史的には ω 6系のエイコサノイドであるプロスタグランジンなどの酸化的脂溶性代謝物 (Oxylipin) の研究が先行し様々な代謝物の構造と生理的作用機構が解明されてきたが、より長鎖で不飽和度の高い構造をもつ DHA などの酸化的代謝物は、 ω 6系の代謝産物よりも遥かに多様なはずであるが、まだそこまでの解明はすすんでいない。さらに、中鎖以下の Oxylipin の存在も考慮すると、現在の理解よりも遥かに多様な Oxylipin の世界があると考えられる。そして、同系の Oxylipin でも相反する生理作用をもたらすものもあり、また短寿命な生成物も多くあって、それらの相互作用によって生み出される多彩な作用機構を分子レベルで解明するのは困難な場合が多い。今後新しい研究手法の開発などにより豊かな Oxylipin の世界の理解が進むことを期待する。

招待演題

飽和脂肪酸と血管石灰化

¹⁾徳島大学大学院 医歯薬学研究部、²⁾コロラド大学 医学部

○増田 真志¹⁾、宮崎 淳²⁾

心血管疾患の進展に関わる血管石灰化は、高齢者や糖尿病、慢性腎不全(CKD)患者の生命予後に影響を与える危険因子であり、我々はその血管石灰化に小胞体ストレスが関与していることを明らかにしてきた(1, 2)。また、飽和脂肪酸による毒性が心血管疾患の発症に寄与すると提唱されており、我々は飽和脂肪酸により誘導される小胞体ストレスが血管石灰化を引き起こすことを報告した(3)。しかし、これまでこの飽和脂肪酸から小胞体ストレスを誘引する詳細な機序については不明であったため、今回我々が解明したその機序について報告させていただきます(4)。

老化原因遺伝子であり CKD 発症時に発現が減少する Klotho 遺伝子の欠損(Klotho^{-/-})マウス及び 5/6 腎摘出(CKD モデル)マウス大動脈の脂肪酸不飽和化酵素(SCD)タンパク発現及びその活性は低下した。次に、血管平滑筋細胞特異的 SCD1/SCD2 ダブルノックアウト(SMC-SCD1/2 KO) マウスを作製し、大動脈の石灰化を von kossa 染色で確認した。また、Real-time PCR 解析の結果、SMC-SCD1/2 KO マウス大動脈において小胞体ストレス関連遺伝子(CHOP, ATF4)及び骨形成関連遺伝子(ALP, OCN)の発現は上昇したが、平滑筋特異的遺伝子(SM22, SMMHC)の発現は減少した。次に、LC-MS/MS を用いた SMC-SCD1/2 KO マウス大動脈の Lipidomic 解析の結果、phosphatidic acid (PA)、が SMC-SCD1/2 KO マウス大動脈で10倍以上に増加し、その PA の脂肪酸組成に関しては飽和脂肪酸(16:0/16:0, 18:0/18:0)が特に有意に増加していた。さらに、ヒト血管平滑筋細胞株(AoSMC)における SCD inhibitor による石灰化及び小胞体ストレス関連タンパク質発現誘導は不飽和脂肪酸であるオレイン酸などの添加により抑制された。また、SCD inhibitor で増加する AoSMC の PA 量及び PA の脂肪酸(16:0/16:0, 18:0/18:0)に関してもオレイン酸により減少することを LC-MS/MS 解析により明らかにした。さらに、PA の脂肪酸組成の違いによる石灰化への影響をアリザリンレッド S 染色で検討した結果、飽和脂肪酸のみを含有した PA(16:0/16:0-PA, 18:0/18:0-PA)は AoSMC の石灰化が見られたが、不飽和脂肪酸を含有した PA(18:1/18:1-PA, 18:2/18:2-PA, 18:0/18:1-PA)では石灰化は観察されなかった。

以上より、CKD 発症時における小胞体ストレスの誘発は、SCD 遺伝子発現の低下による飽和脂肪酸のみで構成された PA 量の増加が原因であり、そのことが血管石灰化を発症させることを明らかにした。

1. Masuda M, Miyazaki-Anzai S, Miyazaki M. *et al.*, PERK-eIF2 α -ATF4-CHOP signaling contributes to TNF α -induced vascular calcification. *J Am Heart Assoc.* 2(5):e000238, 2013
2. Miyazaki-Anzai S, Masuda M, Miyazaki M. *et al.*, Endoplasmic reticulum stress effector CHOP regulates chronic kidney disease-induced vascular calcification. *J Am Heart Assoc.* 3(3):e000949, 2014
3. Masuda M, Ting TC, Miyazaki M. *et al.*, Activating transcription factor 4 regulates stearate-induced vascular calcification. *J Lipid Res.* 53(8):1543-1552, 2012
4. Masuda M, Miyazaki-Anzai S, Miyazaki M. *et al.*, Identification of a class metabolites responsible for saturated fatty acid-induced vascular calcification and lipotoxicity. *J Clin Invest.* 125(12):4544-4558, 2015

SI-1

糖尿病の治療ガイドー食品交換表について

女子栄養大学 栄養クリニック

蒲池 桂子

糖尿病の治療ガイドとして広く用いられている糖尿病食事療法のための食品交換表は、約 50 年前の昭和 40 年 9 月に第1版が発行された。初版から、一貫して食事療法が楽しく一生続けられる方針として以下をあげている。①簡単で作りやすい。②いろいろの食習慣、環境の人が使える。③外食するときにも役立つ。④正しい食事の原則を理解するのに役立つ。その上で、良好な血糖コントロールを保ちながら、さまざまな合併症を防ぐことを目的としている。平成 25 年(2013年)3月に、「日本人の糖尿病の食事療法に関する日本糖尿病学会の提言」がなされた。これを受けて、食品交換表編集委員会では、有識者を集めて約 10 年ぶりの改定版を 10 月に第 7 版に出版した。

今回の改訂では、食品分類表のなかの 1 単位(80 kcal)あたりの栄養素平均含有量に関して、日本人の食生活の現状を踏まえて、一部改定がされた。さらに、食事の炭水化物の割合について従来の 60%エネルギーの配分例のみを示していたところ新たに、55%および 50%の配分例を示すこととなった。たんぱく質は、標準体重あたり 1 g~1.2 g、残りを脂質とする。血糖コントロールを良好に保つために、1 回の食事量を概ね決め、食事の仕方としては、ゆっくり食べる、よくかんで食べる、野菜を先に食べるなどの注意も促している。そして、投薬のある場合は、低血糖防止のための捕食にも言及している。合併症を防ぐ食事としては、減塩、コレステロールおよび飽和脂肪酸を多く含む食品を控えめにする、食物繊維を増加させる。という点が強調されている。

昨今、いわゆるたんぱく質、脂質、炭水化物のエネルギー摂取比率においていろいろな意見が交わされている。糖尿病食事療法のための食品交換表において、糖質制限については、「極端な糖質制限食は長期的には腎症や動脈硬化の進行などが懸念されて、決して勧められません。」と明記されている。一方で、インスリン注射を行っている場合には、カーボカウント法など従来の食品交換表を用いた食事療法とは違う観点から炭水化物の摂取量をコントロールする方法も広がっている。薬物療法や自己血糖測定の進歩など 50 年前とは療養方法も変化しており、今後更なる意見交換が重要と考えられる。

SI-2

糖尿病、久山町の悲劇と糖質制限法

財団法人高雄病院、日本糖質制限医療普及推進協会代表理事
江部 康二

「摂取後直接、血糖に影響を与えるのは糖質のみであり、蛋白質・脂質は、摂取後、直接血糖に影響を及ぼすことはない。」というのが米国糖尿病学会の見解である。これらは含有エネルギーとは無関係の生理学的事実である。食後高血糖と一日平均血糖変動幅増大が、糖尿病患者において最大の酸化ストレスリスクとなるが、これらを生じるのは糖質摂取だけであり、脂質や蛋白質を摂取しても生じない。糖質制限食なら食後高血糖は生じず、平均血糖変動幅は速やかに改善する。一方カロリー制限食を実践しても糖質を摂取すれば、必ず食後高血糖と平均血糖変動幅増大を生じる。酸化ストレス亢進は、糖尿病合併症、動脈硬化、ガン、老化、アルツハイマー病、パーキンソン病などの元凶とされている。米国糖尿病学会は、2013年10月、5年ぶりに「栄養療法に関する声明」を発表し、全ての糖尿病患者に適した唯一無二の食事パターンはないと明言し、糖質制限食、地中海食、ベジタリアン食、低脂質食、DASH食を受容した。脳はブドウ糖だけでなくケトン体をエネルギー源としていくらかでも利用する。ケトン体はインスリン作用が保たれているかぎり安全な物質である。ケトン体は肝細胞内で「脂肪酸→ β 酸化→アセチル CoA→ケトン体」という順番で日常的につくられていて、肝臓では使われずに、他の臓器・脳・筋肉のエネルギー源として供給される。日常生活では空腹時は心筋・骨格筋など多くの体細胞は脂肪酸・ケトン体を主エネルギー源としているのに対して、赤血球・脳・網膜など特殊な細胞だけがブドウ糖を主エネルギー源としている。なお赤血球はミトコンドリアがないのでブドウ糖だけが唯一のエネルギー源である。2型糖尿病高雄病院入院患者において、同一カロリーにそろえた従来の糖尿病食(高糖質食)と糖質制限食における血糖の日内変動を比較検討してみた。その結果、糖質制限食では従来の糖尿病食に比べて顕著な食後血糖改善効果が認められた。糖尿病合併症は米国においては激減したが、日本では毎年16000人が透析、3000人以上が失明、3000人以上が足切断に陥っている。九州大学医学部が1961年以来継続している信頼度の高い久山町研究において、糖尿病発症予防のため1988年から「食事療法+運動療法」により強力に指導が行われた。しかし2002年の統計では、従来の糖尿病食指導により糖尿病発症が激増しており、私はこれを久山町の悲劇と呼んでいる。

SI-3

糖尿病用薬剤－必須薬剤と STOP 薬剤

NPO 法人医薬ビジランスセンター(薬のチェック)

浜 六郎

糖尿病は「必要量のインスリンが出なくなる病気」、つまり「インスリン作用の不足で生じる病気」である。インスリンは、100 種類以上の遺伝子に作用し、糖質のほか蛋白質や脂質も含め栄養素が適切に利用され、各細胞が正常機能を営むことができるように代謝をコントロールしている。したがって、一般に信じられている糖尿病治療の目標「正常血糖値に近づけること」は間違いである。「インスリン作用の不足を軽減し、栄養素が適切に利用され、体全体の各細胞が正常な機能を営むことができるように代謝を回復させ、合併症を減らし、寿命を延長させることが糖尿病の治療目標である。このことは、**ACCORD** 試験で証明されている。また、インスリンなどによる低血糖は、正常な機能に反する現象であり、その意味からまさしく害反応である。

臨床試験のアウトカムは、総死亡(または全生存)でなければならない。心血管疾患の罹患率と死亡率は、癌による罹患や死亡を見逃し、総死亡率増加を見逃す危険性があるため、不適切である。

現時点で、糖質制限食など適切な食事を行ない、適度な運動、睡眠剤に頼らない睡眠と休養を十分にとり、それでも血糖値が高くなる場合に、唯一推奨できる薬剤は、インスリン(インスリンアナログ製剤を除く)である。

SU 剤、SU 類似剤は、SU 受容体に作用し、 K^+ チャネルを閉じ、電位依存性 Ca チャネルを開き Ca^{++} が細胞内に流入し、インスリンの分泌を促進する。しかし、二次無効が生じて逆に高血糖を招く。寿命延長は証明されていない。

ビッグアナイド剤は、ミトコンドリア毒であり、このためインスリンの分泌を低下させ、インスリン過剰で低下している末梢におけるインスリン感受性を高める結果、血糖値を低下させる。BMI が 30 以上でインスリンが過剰分泌の肥満者でのみ有用かもしれない。SU 剤との併用は逆効果。

α -グルコシダーゼ阻害剤は、糖質吸収を抑制するが長期試験が未実施である。

インクレチン関連薬剤(GLP-1 作動剤と、GLP-1 分解酵素である DPP-4 の阻害剤)は、消化管内でブドウ糖を感知して、インスリンを分泌させる GLP-1 の作用を強める。いずれも細胞増殖作用があるため、動物実験でも、臨床試験でも発癌性を認めた。長期予後改善効果は証明されていない。最近公表された **LEDER** 試験には、重大な方法論上の問題があり、やはり長期予後を改善したといえない。

SI-4

糖尿病予防の脂質栄養—隠れていた発症因子

名古屋市立大学名誉教授、金城学院大学、NGO 日本食品油脂安全性協議会
奥山 治美

糖尿病予防の基本は過栄養を防ぐことであり、わが国では「栄養素の摂取バランスを保ちながら過栄養を防ぐ」ことに主点がおかれてきた(食品交換表法)。一方、米国心臓協会の「脂肪摂取制限法」や Atkins の「糖質制限法」も導入されている。これらは短期的には糖尿病の指標(HbA1c 値など)の改善に有効であるが、長期的に糖尿病の合併症(心血管疾患、腎障害など)を予防できておらず、1980 年頃より糖尿病の有病率が上がり続けている。これら各種の予防法では、(ア) 脂質を単にエネルギー源とみなしているか、あるいは、(イ) 動物性脂肪/植物油の摂取比を下げる、という内容を含んでいる。ここに、大きな誤りがあった。

栄養素摂取の趨勢 1965 年ころより脂質摂取が 3 倍に増え、糖質と総エネルギーの摂取が減ったが、タンパク質摂取には大きな変化はなかった。増えた脂質は動物性と植物性がほぼ等量であった。心血管疾患の予防では、「動物性脂肪の摂取を減らし植物油を増やす」という食事指導は、完全に誤りであった。

数種の植物油脂が糖尿病を発症させるメカニズム バター、ラード、しそ油・エゴマ油、大豆油などに比べ、カノーラ菜種油、オリーブ油、コーン油、部分水添植物油などは、脳卒中ラットの寿命を 4 割ほど短縮する(用量依存的)。大豆油を対照にすると、カノーラ菜種油、水添大豆油は、脳出血促進、血小板減少、腎障害などビタミン K₂ 欠乏症と似た症状があらわれた。実際マウスでは、ビタミン K₂ で活性化されたオステオカルシンの割合が低下し異所での骨形成(石灰化)が促進された。骨ホルモンのオステオカルシンはインスリン、インクレチン、テストステロンなどの分泌に必要であり、これらの障害が糖尿病とその合併症を発症させている。

脂肪酸と糖尿病 α -リノレン酸、EPA、DHA は他の脂肪酸に優先して消費され貯蔵脂肪になりにくい。リノール酸は貯蔵されやすく、またアラキドン酸カスケードを介して糖尿病を促進する。飽和・一価不飽和脂肪酸は貯蔵されやすく、糖質、タンパク質と同様に過剰摂取を避ける必要がある。

むすび 糖尿病予防のため、脳卒中促進作用の見られている植物油脂、 α -リノレン酸/リノール酸比の低い植物油を避けることを勧める。

SII-1 ・ランズ賞 学術賞

ω3 脂肪酸の代謝と抗炎症作用に関する研究

慶応義塾大学 薬学部 代謝生理化学講座
理化学研究所 統合生命医科学研究センター
横浜市立大学 大学院生命医科学研究科
有田 誠

脂質はエネルギー源、生体膜成分、シグナル伝達分子としての機能をもち、生命活動において必須である。我々はこれまでに、生体内の脂肪酸やリン脂質の代謝を網羅的かつ定量的に把握するためのメタボローム解析システムを構築し、炎症・代謝性疾患の制御において脂肪酸代謝バランスが重要であることを示してきた。中でも、エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) など ω3脂肪酸が体内で活性代謝物に変換され、積極的に抗炎症作用を発揮していることを見出してきた。これら内因性の炎症制御性物質をメタボローム解析により包括的に捉え、その生成機構や作用機構を分子レベルで明らかにすることは、炎症を基盤病態とする様々な疾患の病態解明および治療法の開発につながることで期待される。

EPA や DHA など ω3脂肪酸には、抗炎症作用や心血管保護作用があることが知られている。ω3脂肪酸は、ω6系であるアラキドン酸から生成する起炎症性メディエーター (プロスタグランジンやロイコトリエン) の生成と作用に対して拮抗することで炎症を抑制すると考えられてきたが、新たに EPA や DHA から生成する抗炎症性代謝物 (レゾルビンやプロテクチン) が見いだされ、その生理機能が注目されている。このような背景のもと、我々はアラキドン酸、EPA、DHA 由来の代謝物を包括的に捉える目的で、高速液体クロマトグラフィー・タンデムマスマスペクトロメトリー (LC-MS/MS) を用いたメタボローム解析システムを確立した。また、哺乳類では本来持たない機能である ω3脂肪酸合成能を持たせるため、線虫由来の ω3脂肪酸合成酵素 (Fat-1) を遺伝子導入したトランスジェニックマウス (Fat-1 Tg マウス) を用いている。この Fat-1 Tg マウスは、炎症性疾患やがんに対して強い抵抗性を示し、これまで栄養学的な解析しかなされてこなかった ω3脂肪酸の生理機能に対して遺伝学的な根拠を与え、かつ細胞・分子レベルでの解析が可能になった。これらの研究を通して、これまでに栄養学的に広く認知されていた ω3脂肪酸の疾病予防効果について、特定の細胞や臓器から生成する内因性の抗炎症性代謝物が関与する可能性を明らかにしてきた。本講演では、ω3脂肪酸の代謝と抗炎症作用に関わるこれまでの研究成果と今後の展望について議論したい。

SII-2

リゾホスファチジン酸(LPA)受容体の細胞分化制御機能

秋田大学大学院 医学系研究科 生体防御学講座
石井 聡

リゾホスファチジン酸(LPA)、ロイコトリエン、プロスタグランジンなどの一部の脂質は、細胞間の情報伝達に利用されホルモン様の生理活性を示す。これらホルモン様の生理活性を示す脂質(脂質メディエーター)の多くは特異的な G タンパク質共役型受容体(GPCR)と結合し、その受容体ごとに決まったクラスの三量体 G タンパク質を活性化して細胞内シグナルを惹起する。

LPA には 6 種類もの GPCR (LPA1~LPA6)が現在までに同定されており、多彩な生体機能を LPA が発揮する一因となっている。以前、我々は LPA4 と LPA6 が $G\alpha 12$ 及び $G\alpha 13$ ($G\alpha 12/13$ と表記)を強く活性化する GPCR であることを明らかにした [Yanagida et al. *J. Biol. Chem.* (2007), Yanagida et al. *J. Biol. Chem.* (2009)]。

$G\alpha 12/13$ の活性化は、*in vitro* で突起退縮などの形態変化やストレスファイバー形成を細胞に引き起こすことが知られるが、生体機能における役割は不明な点が多い。我々は $G\alpha 12/13$ の活性化に注目して LPA4 や LPA6 を介した LPA の生体機能について研究を進めてきた。本発表では最近明らかになった LPA の細胞分化制御機能について、脂肪細胞と血管内皮細胞を例に紹介したい。

SII-3

リゾリン脂質メディエーターの新しい機能

東北大学大学院 薬学研究科 分子細胞生化学分野

青木 淳賢

リン脂質は通常2本の脚、すなわち、脂肪酸を持つ。リン脂質は生体膜を構成する主要な成分であり、我々の体を構成する主要な成分である。一方、リゾリン脂質は脂肪酸を1本だけ持つ片脚のリン脂質である。リン脂質の極性頭部に多様性があるのと同様に、リゾリン脂質もその極性頭部の構造により分類される。リゾリン脂質はまたグリセロ骨格とスフィンゴ骨格に大別され、それぞれに結合する極性基とアシル基の種類組み合わせにより多数の分子種が存在する。古くからあるリゾリン脂質は培養細胞レベルや個体レベルで様々な薬理作用を引き起こすことが知られてきたが、生体内で実際にこれらリゾリン脂質が産生されて生理機能を発揮しているかどうかはほとんどわかっていなかった。

リゾリン脂質の物理化学的特徴は、親水基であるリン酸基と疎水性のアシル基を有することにある。この特徴により、細胞膜を構成するジアシルリン脂質(アシル基を2本有するリン脂質)に比べ疎水性が低下しており、容易に細胞膜から遊離して作用する。また、リゾリン脂質は脱リン酸化や脱アシル化を受けてすみやかに消去される。このように生体に豊富に存在するジアシルリン脂質から産生され、細胞外に遊離し、直ちに消去される。これまでに複数の G タンパク質共役型受容体(GPCR)がリゾリン脂質の受容体として同定され、リゾリン脂質の示す多様な生理機能の大部分を担うことが明らかになってきている。

本講演では、最もよく解析が進められているリゾリン脂質メディエーター、リゾホスファチジン酸(LPA)と我々の研究室で最近複数の受容体が同定されたリゾホスファチジルセリン(LysoPS)に焦点を当てる。その構造、受容体、産生酵素に関する発見とそれらを通じた LPA、LysoPS の新規生理・病体機能に関する知見を紹介する。

SII-4

イノシトールリン脂質代謝と病態

秋田大学大学院 医学系研究科 微生物学講座
佐々木 雄彦

細胞内のシグナル伝達において、細胞膜脂質はタンパク質と共に重要な役割を担う。特にイノシトールリン脂質 (phosphoinositides: PIPs) は、リン脂質の中で最大となる親水基のサイズと負電荷をもって多種多様なタンパク質に作用し、それらの細胞内局在や活性を制御する¹⁾。

我々は、PIPs の親水基を修飾するキナーゼ/ホスファターゼ、また、アシル基のリモデリングに関わる酵素の遺伝子欠損マウスの解析によって、PIPs 代謝酵素の異常が細胞の形態変化、増殖、分化、生死、老化といった根源的な生命現象の異常につながり、その結果として癌²⁾、炎症性疾患³⁾、神経変性疾患⁴⁾をはじめとする幅広い病態の形成に関わることを明らかにしてきた。ヒト疾患においても PIPs を基質とするキナーゼやホスファターゼの遺伝子変異が報告されており、例えばホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 [PI(3,4,5)P₃] 分解酵素の一つである PTEN の活性欠失型異常は、ヒト癌で p53 に次いで最も頻繁に認められる遺伝子異常である。PI(3,4,5)P₃ 生成酵素である I 型 PI3 キナーゼを標的とした抗癌剤の開発など、一部の PIPs 代謝酵素については、医療応用にむけた研究開発も手掛けられている。このように PIPs による生体調節機構は、生命科学のみならず創薬の観点からも、注目を集める研究対象の一つとなっている。

本シンポジウムでは、新しい PIPs 解析技術の開発⁵⁾や PIPs アシル基多様性の生物学的意義などに関する最近の知見を紹介し、これからの PIPs 代謝研究について議論したい。

1. Sasaki T. *et al.*: Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog Lipid Res.* **48**, 307-343, 2009
2. Stambolic, V. *et al.*: Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell* **95**, 29-39, 1998
3. Sasaki, T. *et al.*: Function of PI3K in thymocyte development, T cell activation, and neutrophil migration. *Science* **287**, 1040-1046, 2000
4. Sasaki J. *et al.*: The PtdIns(3,4)P₂-phosphatase INPP4A is a suppressor of excitotoxic neuronal death. *Nature* **465**, 497-501, 2010
5. Kofuji S. *et al.*: INPP4B is a PtdIns(3,4,5)P₃ phosphatase that can act as a tumor suppressor. *Cancer Discov.* **5**, 730-739, 2015

ランチョンセミナー

リポミクスの基礎と応用

秋田大学 生体情報センター

中西 広樹

脂質は組織・細胞の乾燥重量の半分を占める生体物質であり、様々な細胞機能に関与する。生体レベルでは、脂肪酸やコレステロール、トリグリセリドなどの脂質が栄養学的観点からQOLに重大な影響を与えることが知られている。日本が世界に誇る長寿の原因が海産物由来脂肪酸の日常的な摂取にあることは疫学的見地からも明らかである。また、日本発の高コレステロール血症治療薬メバロチンや、抗炎症薬アスピリンといった、全世界で広く使われている薬のターゲットとしても、脂質の重要性は認識されている。

しかし、水に溶けない物性、ゲノムに直接コードされないことなどから、脂質分子は特異な生体内物質とみなされ、科学技術が進歩した現在でも解析し難い対象として捉えられている。このことが多くの脂質機能が未解明のまま残されている一因であり、また、その重要性とは裏腹に研究者人口が増加しない原因とも考えられる。幸いにも近年、この状況にブレークスルーの兆候がみられる。質量分析機器を用いた解析技術が進歩するにつれて、生体内には数10万種もの脂質が存在することが明らかになった。そのうち構造・機能が判明しているものは、ごくわずかに過ぎないが、この「脂質」という多様な生体内分子群は、ゲノム、プロテオームに比肩して、健康社会の実現に有意なバイオリソースととらえることができる。「この宝の山の中には、まだ誰も知らない、人類に役立つ活性、機能を持つ分子が数多く眠っている」ことが十分期待できる。脂質分子種の機能、構造などの全容解明と、ゲノム配列や遺伝子発現で進んでいるようなデータベース化は、学術的、医学的な観点から早急に着手すべき次世代の社会的課題と位置付けることができる。

本セミナーでは、いまや脂質研究に必要不可欠になりつつある脂質メタボローム解析(リポミクス解析)の黎明期から成長期にかけての装置の発展と分析法の使い分けなど、リポミクスの基礎から応用までを紹介させていただきたい。

市民公開講座・大会特別シンポジウム C-1

コレステロールは高い方が死にくい

富山大学名誉教授、富山城南温泉第二病院 内科
浜崎 智仁

コレステロールが高い、糖尿病である、あるいは虚血性心疾患があると、自動的にコレステロール低下薬(スタチン)が勧められます。科学的な根拠はあるのでしょうか？ほとんどありません。

医学論文には、薬の有効性を示すトリックがあります。日本で行われた MEGA Study では、33%の人に有効だったとされています。(スタチン群では虚血性心疾患が 2%に発症し、対照群では3%。その差は、33%の低下となる。相対値)。ところが絶対値は1%です。この 1%ですら意味がなく、むしろメバロチン群の方が、生存を確認できなかった人が多いことが分かっています。

以下はスタチンの副作用です:1. 認知症、うつ、他の神経障害(スタチンは、脳に入り、大切な脳のコレステロール合成を止めます)、2. 筋肉・関節障害、3. インポテンツ、4. 白内障、5. 糖尿病、6. 発癌(動物実験、疫学調査、介入試験でも発癌性が発表されています)、7. 催奇形性、その他。今まで、年を取ったからとだと思っていませんでしたか？次の演者の奥山先生がスタチンの細胞毒性を解明しました。

コレステロール粒子は病原体やその破片(リポポリサッカライドなどの発熱物質)に非特異的に接着し、その毒性を中和し、感染症の発症を予防します。当然スタチンの服用はそれを反故にします。

家族性高コレステロール血症(FH)は、高コレステロールにより心筋梗塞を起こすとの仮説で、一番わかりやすい実例とされてきました。ところが、FH の人達の中では、心筋梗塞を起こす人と起こさない人とで、コレステロール値に差がありません。異常な血液凝固系遺伝子が一緒に遺伝しているために心筋梗塞を起こすので、コレステロールとは直接関係ないことが分かってきました。

生死に関わる疾患の予防研究では、総死亡率が当然一番重要な指標となります。日本の LDL-コレステロール(あるいは総コレステロール)と総死亡率の研究では、コレステロールが高い人達の方が死にくいのです。今までに、例外的なデータが一つ出ているだけです。

以上のように、コレステロール低下医療はほとんど意味をなしません。なお、スタチン等を中止する場合は、主治医と相談してください。また、さらに情報が欲しい方は、日本脂質栄養学会の HP の「コレステロールを考えるシリーズ」をご覧ください。

市民公開講座・大会特別シンポジウム C-2

コレステロール低下剤と植物油が心疾患や糖尿病を発症させる機構

名古屋市立大学名誉教授、金城学院大学、NGO 日本食品油脂安全性協議会
奥山 治美

長い間、「コレステロール値が高いと血管がつまって動脈硬化が進む」といわれてきました。ところが悪玉といわれる LDL-C 値を下げ、善玉といわれる HDL-C 値を上げる薬が作られましたが、これらは心臓病を予防できませんでした。それどころか、寿命を短くしてしまったのです。

一方、コレステロールの上昇とは関係なく、動脈硬化や心不全が発症するメカニズム(仕組み)が、コレステロール低下剤(スタチン)や植物油脂の研究からわかってきました。

脳卒中を発症しやすい高血圧ラットに各種の植物油脂をあたえると、寿命に大きな差が出ました。バター、ラード、しそ油・エゴマ油、大豆油などに比べ、カノーラ菜種油、部分水添の大豆油、オリーブ油、コーン油などが、その寿命を 4 割ほど短くしたのです。有害作用を示す量は、現在の日本人の摂取量と大差がありません。その作用を調べてみますと、ビタミン K2 依存の反応が阻害されていました。その結果、動脈や腎臓の石灰化が促進され、性ホルモン(テストステロン)のレベルが低下し、心臓病や動脈硬化が発症することが分かりました。

薬の面から見てみましょう。スタチンと血栓予防に使われるワルファリンはともにビタミン K2 依存の反応を阻害し、カノーラ菜種油などと共通のメカニズムで心血管病を発症させます。さらにこれらは糖尿病を発症させ、脳卒中を促進し、腎障害や骨密度の低下をもたらし、頭のはたらきを乱すこともわかってきたのです。このメカニズムの根拠として、動物実験の結果のみならず臨床データも集まってきました。

動脈硬化のコレステロール仮説は、完全にひっくり返りました。

コレステロールや動物性脂肪は脳卒中の予防因子であり安全性は高いのです。これに対し、脳卒中促進作用を示す数種の植物油脂(上述)やリノール酸/ α -リノレン酸比の高い多くの植物油の摂取を減らすことが、今、もっとも重要です。

現在、油糧種子の輸出国やコレステロールを悪玉にしておくことで利益を得ている企業集団がメディア界を支配して、市民を惑わす広報活動を続けています。そして多くの健康プロがそれに雷同しています。それらに惑わされることなく、エビデンスに基づく脂質栄養の新しい方向に目を向けてください。

O-1

オメガ 3 系脂肪酸による予防介入試験後の赤血球膜 エイコサペンタエン酸組成と心的外傷後ストレス症状の関連

¹⁾国立がんセンター社会と健康研究セ、²⁾災害医療センター精神、³⁾富山大・医・公衆衛生、
⁴⁾国立精神・神経センター精神、⁵⁾富山城南温泉第二病院
○松岡 豊¹⁾²⁾、浜崎 景³⁾、西 大輔²⁾⁴⁾、浜崎 智仁⁵⁾

【目的】 心的トラウマ体験者を追跡した前向きコホート研究(Matsuoka Y et al, 2013)と心的トラウマ後ストレス障害(PTSD)患者の横断研究(Kalinic D et al, 2014)から、エイコサペンタエン酸(EPA)が PTSD に対して保護的に働くことが示唆される。今回、 ω 3 系脂肪酸による重度身体外傷後 PTSD 予防を目的に実施されたプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験研究(Matsuoka Y et al, 2015)の臨床及び生体試料データを利用して、群毎にベースラインならびに介入終了時点の赤血球膜中多価不飽和脂肪酸組成と PTSD 症状の関連を検討した。

【方法】 ランダム化比較試験参加者 110 名から得た末梢血を利用してベースラインと介入終了時点における赤血球膜中 EPA、ドコサヘキサエン酸(DHA)、アラキドン酸(AA)組成を測定した。参加者は ω 3 系脂肪酸群(1,470mg DHA+147mg EPA)53 名とプラセボ群 57 名に割り付けられた。介入終了時の PTSD 症状は構造化診断面接の Clinician-administered PTSD Scale (CAPS) で評価し、CAPS 合計スコアを重症度とした。脂肪酸組成(EPA, DHA, EPA+DHA, AA, EPA+DHA:AA 比, EPA:DHA 比)と CAPS 合計スコアの関連はスピアマン順位相関係数を求めて検定した。

【結果】 ω 3 系脂肪酸群では、介入終了時の EPA+DHA、EPA、EPA+DHA:AA 比、EPA:DHA 比がそれぞれ CAPS 合計スコアと有意な負相関を示した。ベースライン時の脂肪酸組成との関連は認めなかった。プラセボ群では、ベースライン時の EPA+DHA、EPA、DHA、EPA+DHA:AA 比と CAPS 合計スコアが正相関、AA と CAPS 合計スコアが負相関を示した。

【結論】 ランダム化比較試験の二次解析の結果、 ω 3 系脂肪酸介入後の高 EPA 組成が ω 3 系脂肪酸群における低い PTSD 症状に関連していた。本研究から心的トラウマ後の PTSD 症状最小化には DHA ではなく EPA の方が効果的である可能性が示唆された。

O-2

妊婦におけるうつ症状軽減を目指したオメガ 3 系脂肪酸 によるオープン試験

¹⁾東京医科大・医、²⁾国立精神・神経医療研究センター、³⁾中国医薬大・医、⁴⁾富山大・医、
⁵⁾東北大・メディカル・メガバンク機構、⁶⁾東北福祉大学・リハ、⁷⁾戸田中央産院、⁸⁾
千葉大・医、⁹⁾富山城南温泉第二病院、¹⁰⁾国立がん研

○西 大輔¹⁾²⁾、Kuan-Pin Su³⁾、臼田 謙太郎¹⁾²⁾、Yi-Ju Jill Chiang³⁾、
Tai-Wei Guu³⁾、浜崎 景⁴⁾、中谷 直樹⁵⁾、曾根 稔雅⁶⁾、佐野 養⁷⁾、
伊東 宏絵¹⁾、井坂 恵一¹⁾、橋本 謙二⁸⁾、浜崎 智仁⁹⁾、松岡 豊¹⁰⁾

【目的】 EPA を主成分とするオメガ 3 系脂肪酸サプリメントのうつ病・うつ状態への有効性については数多くの RCT やそのメタ解析から示唆されているが、日本は日常の食事から摂取するオメガ 3 系脂肪酸の量が世界でも有数に多いため、日本におけるエビデンスが求められている。本研究では、RCT に先立って妊婦のうつ症状に対する潜在的な有効性および安全性を検討するため、オープン試験を日本と台湾で行った。

【方法】 戸田中央産院および中国医薬大学(台湾)において、妊娠 12-24 週でエジンバラ産後うつ病質問票(EPDS)の得点が 9 点以上の妊婦を連続サンプリングした。除外基準は 1) 精神病性障害、双極 I 型障害、アルコールおよび物質関連障害、摂食障害、パーソナリティ障害の既往があるか現在通院中、2) 重度の精神症状を認め迅速な精神科治療を要する状態、3) 胎児奇形などの理由により、通常の出産が困難であることが予測される、4) von Willebrand 病など出血傾向のある身体疾患、5) 重度喫煙者(一日 40 本以上)、6) 直近の 3 ヶ月以上にわたって EPA(エパデル®)または抗血小板薬を定期的に内服中、7) 直近の 3 ヶ月以上にわたって不飽和脂肪酸のサプリメントを定期的に内服中、8) 1 週間に 4 回以上魚を食べる習慣、とした。EPA1,200mg と DHA600mg を 12 週間投与し、介入前と比較した介入 12 週後の Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) の得点を主要評価項目とした。

【結果】 日本と台湾で合わせて 13 人(日本 8 人、台湾 5 人)の妊婦が研究に参加した。HAM-D の得点は介入前の平均 12.1 点 (SD 3.7)から介入 12 週間後には平均 4.8 点 (SD 4.9)と有意に低下していた。オメガ 3 系脂肪酸に起因する重篤な有害事象はなかった。

【考察】 日本でも、オメガ 3 系脂肪酸がうつ病・うつ症状に対して有効である可能性が初めて示唆された。ただ本研究は研究デザイン上の限界があり、真の有効性を検討するための RCT が必要である。

【結論】 妊婦のうつ症状に対するオメガ 3 系脂肪酸の潜在的有効性と安全性をわが国で初めて示した。(Nishi D *et al. Psychiatry Clin Neurosci*, epub ahead of print, 2016)。

O-3

児の出生体重と母親の体格及び母体血・臍帯血中脂肪酸との関連 —エコチル調査の追加調査より—

¹⁾女子栄養大・栄養、²⁾尚絅学院大・健康栄養、³⁾東北大・未来科学技術共同研究センター、⁴⁾東北大院農・食の健康科学ユニット、⁵⁾東北大院医・発達環境医学、⁶⁾東北大院医・情報遺伝学、⁷⁾東北大院医・周産期医学

○松本 梓¹⁾、川端 輝江¹⁾、木村 ふみ子²⁾、宮澤 陽夫³⁾⁴⁾、仲井 邦彦⁵⁾、
龍田 希⁵⁾、有馬 隆博⁶⁾、八重樫 伸生⁷⁾

【目的】我が国における低出生体重児の割合が上昇している。低出生体重児では、将来心血管疾患やメタボリックシンドロームのリスクが高くなることが懸念されている。そこで、本研究では児の出生体重に対して、母親の体格ならびに母体血及び臍帯血中脂肪酸との関連性を検討することを目的とした。

【方法】研究デザインは、ネステッドケースコントロール研究の手法を用いた。対象者は、子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)の追加調査にて、宮城県沿岸部在住の健康な妊娠女性及びその児とした。母親の年齢が 20 歳未満あるいは 40 歳以上、喫煙者、データに不足がある者、双胎児を除外後、ケースとコントロールを 1:1 で抽出を行った。脂肪酸分析には、妊娠 24 週から 30 週の間採取した母体血と、分娩時に臍帯静脈から採取した臍帯血を用いた。血漿をナトリウムメトキシド溶液を用いて、グリセロリン脂質の脂肪酸に反応させ、メチルエステルの選択的合成を行った。その後、ガスクロマトグラフ法にて測定した。児の体格区分は、板橋らの示す新しい在胎期間別出生時体格標準値を参照して、在胎期間に応じた出生体重よりも 10th パーセンタイル未満を SGA(n=47)、90th パーセンタイル以上の児を LGA(n=198)、その間に入る適切な体重の児を AGA(n=300)とし、AGA の中でも出生体重が 2500g 未満の児を LBW(n=55)とし 4 つの群に分けた。基本属性、長鎖多価不飽和脂肪酸、トランス脂肪酸、脂肪酸比率により求めた D6D 活性・D5D 活性について 4 群間の比較を行った。

【結果及び考察】AGA に対して LBW では、妊娠期間における母親の体重増加量(AGA:10.3±4.0kg LBW:6.6±9.0kg)、児の在胎週数(AGA:38±1.1 週 LBW:36±1.9 週)が有意に低かった。LGA では、母親の非妊娠時体重(AGA:54.8±10.1kg LGA:59.2±12.7kg)、非妊娠時 BMI(AGA:21.9±3.8kg/m² LGA:23.5±5.0kg/m²)が有意に高かった。母体血、臍帯血中脂肪酸は現在測定中である。途中経過であるものの、AGA に対して LBW、SGA、LGA ではそれぞれ有意な差が見られた脂肪酸があり、詳細について報告する。

O-4

メタボリックシンドロームにおける血漿リン脂質中の パルミトレイン酸と摂取栄養素の関連

¹⁾仙台白百合女子大・健康栄養、²⁾奈良女子大・食物栄養、
³⁾奈良県健康づくりセンター、⁴⁾広島国際大・医療栄養
○菅原 詩緒理 ¹⁾²⁾、赤羽 たけみ ³⁾、福居 健一 ³⁾、塚本 幾代 ²⁾⁴⁾

【目的】 血漿リン脂質(PL)脂肪酸組成は、肥満やメタボリックシンドローム (metabolic syndrome : Mets)、糖尿病などの代謝疾患と関連することから、疾病のリスク指標としても使用されている。しかしながら日本人男性における Mets 進展のリスクに關与する血漿 PL 脂肪酸は未だ十分に明らかにされていない。そこで本研究は、日本人男性における Mes のリスク上昇と血中 PL 脂肪酸の関連を調べ、さらに Mets のリスク上昇に關与した血中 PL 脂肪酸と摂取栄養素の関連を調べ、Mets 予防のための栄養療法を検討することを目的とした。

【方法】 健康診断を受診し同意が得られた日本人男性 315 名を対象に、身体計測、血液生化学検査、食物摂取頻度調査、そして血漿 PL 脂肪酸組成分析を行った。Mets の構成因子は次の 4 つの項目とした。1) 内臓脂肪型肥満：腹囲 $\geq 85\text{cm}$ 、2) 血圧高値：収縮期血圧 $\geq 130\text{mmHg}$ 、かつ/または拡張期血圧 $\geq 85\text{mmHg}$ 、3) 脂質異常：中性脂肪 $\geq 150\text{mg/dl}$ 、かつ/または HDL コレステロール $< 40\text{mg/dl}$ 、4) 高血糖：血糖 値 $\geq 110\text{mg/dl}$ 。また Mets の判定は、日本内科学会が定める基準に従い、1)を満たし、かつ 2)~4)のうち 2 つ以上を該当する場合とした。

【結果】 対象者のうち 88 名が Mets に該当した。血漿 PL 脂肪酸組成において、ステアリン酸、一価不飽和脂肪酸、パルミトレイン酸、オレイン酸、ジホモ- γ -リノレン酸は、Mets 構成因子数の増加と有意な正の傾向性が認められた ($P_{\text{trend}} < 0.05$)。一方、リノール酸は、Mets 構成因子数の増加と有意な負の傾向性が認められた ($P_{\text{trend}} < 0.01$)。ロジスティック回帰分析の結果、Mets のリスク上昇には血漿 PL パルミトレイン酸が有意に關連する可能性が示唆された。また、血漿 PL パルミトレイン酸は、 α -トコフェロール、多価不飽和脂肪酸摂取量と有意な負相関が認められた。

【考察・結論】 日本人男性の Mets 予防における栄養療法は、 α -トコフェロール、多価不飽和脂肪酸摂取量を増加させることが有用であることが示唆された。

O-5

ココナッツオイルの単回摂取における血中ケトン体生成の経時変化 —層別無作為化単盲検比較交差試験—

¹⁾女子栄養大・栄養、²⁾東ソー(株)、³⁾埼玉県立大・健康開発

○古田 有花 ¹⁾、真仁田 大輔 ²⁾、廣渡 祐史 ³⁾、田中 明 ¹⁾、川端 輝江 ¹⁾

【背景・目的】 近年、ココナッツオイルの効果として、体重減少や摂食後のケトン体生成に基づく認知機能低下リスクの低減が示唆されている。ココナッツオイルの主成分であるラウリン酸は炭素数 12 の飽和脂肪酸であり、吸収・代謝経路から、中鎖脂肪酸であるか長鎖脂肪酸であるかはいまだ研究者によって見解が異なっている。そこで、ヒトにおいて、ココナッツオイル摂食後のケトン体生成について経時的な変化を分析し、代謝(吸収～体内酸化)について検討することを目的とした。

【方法】 18～26 歳の女性 15 名を対象とし、被験者を月経周期により層別化後、無作為に 3 群に分け層別無作為化単盲検比較交差試験を実施。ココナッツオイル(CO 食)、中鎖脂肪酸オイル(MCT 食)、長鎖脂肪酸オイル(LCT 食)を、それぞれ 30g ずつ含む 3 種類の試験食にて比較交差試験を行った。被験者は 10 時間以上の絶食の後、試験食摂取前及び摂取後 2、4、6、8 時間後(5 ポイント)にそれぞれ採血を行い、血中ケトン体及びケトン体生成に関連する血中成分について分析し、その変動について検討を行った。

【結果】 食後 8 時間までのケトン体の iAUC 値は MCT 食 > CO 食 ($p < 0.05$) > LCT 食 ($p < 0.001$) であった。CO 食摂取後のケトン体値を 2 時間ごとに比較すると、MCT 食との比較では、2 時間後は有意に低かった ($p < 0.01$) が、4 時間後以降は差が認められなかった。また、LCT 食に対して CO 食は、2 時間後と 4 時間後に有意に高かった ($p < 0.01$) が、6 時間後以降は差が認められなかった。

【考察・結論】 ケトン体の動態から、ココナッツオイルは、門脈から吸収される MCT 食と比較すると、吸収はゆっくりである可能性が示唆された。また、ケトン体 iAUC 値より、酸化は MCT 食 > CO 食 > LCT 食の順に亢進した。以上の結果から、ココナッツオイルは、代謝(吸収～体内酸化)の過程において、MCT オイルと同じではなく、MCT オイルと LCT オイルの中間をたどる可能性が考えられた。

O-6

アケビ種子油及び合成油の体脂肪低蓄積性と そのメカニズムの解析

¹⁾秋田大・教育文化・生活科学

○池本 敦¹⁾、丹羽 麻里那¹⁾、鈴木 景子¹⁾

【目的】 アケビ種子油はかつて秋田でつくられていた伝統的食用油であり、主成分が 1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート(1,2-DAGA)であるという特徴を有する。一般のトリアシルグリセロール(TG)を主成分とする植物油と比較して、食後の血中中性脂肪の上昇率が低く、体脂肪が付きにくい性質を持つことがこれまでの研究で明らかとなっている。本研究では、アケビ種子油及び化学合成したアセチル化油脂の体脂肪蓄積性の低下とそのメカニズムを解析したので報告する。

【方法】 アケビ種子油(Akb)から 1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート(1,2-DAGA)をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、実験に用いた。合成アセチル化油脂(S.DAGA)は、ジアシルグリセロール(1,3-DG : 1,2-DG = 7 : 3)をピリジン触媒で無水酢酸によりアセチル化することで合成した。S.DAGA は、1,3-ジアシルグリセロ-2-アセテート(1,3-DAGA)と 1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート(1,2-DAGA)を 7 : 3 の比で含有する油脂である。

【結果】 各種油脂を重量比 10%添加した無脂肪精製試料を雄性 ICR 系マウスに 4 週齢から 8 週間与えたところ、TG や DG を与えた群と比較して、Akb 及び S.DAGA を与えた群では有意に体脂肪蓄積性が低く、体重の増加率が低かった。ヒト結腸ガン由来 Caco-2 細胞株を用いて、培地に油脂と消化酵素のリパーゼを添加する実験系を確立し、脂質の消化・吸収過程を培養細胞レベルで解析したところ、1,2-DAGA と 1,3-DAGA はいずれも、TG と比較して、消化・吸収効率が低く、中性脂肪に再合成されにくいことが示された。

【考察・結論】 Caco-2 細胞を用いたアッセイ系では、抗肥満薬として使用されるリパーゼ阻害剤のオルリスタットの効果も確認でき、油脂の消化・吸収過程を解析する系として有用であることが分かった。また、1,2-DAGA と 1,3-DAGA がリパーゼで消化されにくいことが遊離脂肪酸の産生量減少からも示され、再合成され培地中に分泌される中性脂肪量も顕著に低い値を示した。以上のように天然及び合成したアセチル基含有油脂は、肥満予防に有効であることが明らかとなった。

O-7

脂肪酸による破骨細胞分化制御について

¹⁾宮城大院・食産

○松本 陽¹⁾、尾形 菜摘¹⁾、菊池 拓矢¹⁾、北島 湧太¹⁾、毛利 哲¹⁾、
西川 正純¹⁾

【目的】我が国では高齢化に伴い骨粗鬆症患者が急増しており、疾病者数は約 1280 万人に上る。骨粗鬆症は、閉経・加齢・生活習慣病などの要因により骨代謝のバランスが崩れ、破骨細胞の働きが強まることで発症すると言われている。近年、骨粗鬆症のリスク軽減が期待される機能性成分として、ドコサヘキサエン酸(DHA)、エイコサペンタエン酸(EPA)が注目されている。これらの脂肪酸は生体内で必要に応じて、シクロオキシゲナーゼやリポキシゲナーゼによって代謝体に変換される。そこで本研究では、骨粗鬆症の進行において重要な破骨細胞に注目し、各種脂肪酸、並びにそれらの代謝体が破骨細胞分化の誘導・抑制に及ぼす影響について解明することを目的とした。

【方法】マウス由来マクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞に、破骨細胞分化促進因子(RANKL)とともに DHA、EPA、アラキドン酸(AA)、パルミトレイン酸(POA)を濃度別(0.5, 1, 10 μ M)に処置し、破骨細胞の分化誘導への影響を比較検討した。評価は、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色による細胞数・面積測定、形態観察と、Real-time PCR 法に基づいた遺伝子発現解析を実施した。その後、顕著な効果を示した DHA に着目し、生理活性本体を同定・定量を目的に LC/MS/MS を用いて MRM モードを適用した DHA 代謝体の一斉分析系を構築し、DHA 代謝体の破骨細胞の分化誘導に及ぼす影響を検証した。

【結果・考察】分化細胞数・面積測定、形態観察の結果、DHA、EPA のいずれにおいても分化抑制作用が認められたが、DHA の方が強力であった。一方、AA においては分化促進作用が確認された。POA は、目立った変化はなく、分化への影響は少ないものと考えられた。遺伝子発現解析の結果、DHA は Cathepsin K 発現量を有意に減少させ、骨吸収過程において阻害効果をもつ可能性が示唆された。EPA・AA においては顕著に増減した遺伝子はなかった。さらに DHA の破骨細胞の分化誘導抑制作用について活性本体を特定すべく LC/MS/MS を用いた一斉分析法の構築を行った。解析の結果、DHA 由来モノヒドロキシ脂肪酸の 20-HDoHE、4-HDoHE が多く定量され、これら代謝体が細胞分化に影響を及ぼしていることが示唆された。しかし、20-HDoHE、4-HDoHE による破骨細胞の分化誘導試験を実施した結果、細胞数・面積測定、形態観察では、両者ともコントロールとの差異は認められなかった。今後は DHA の新規代謝体の検索を引き続き行うとともに、EPA や AA の代謝体を含めた一斉分析法の構築・評価を行うことで、各種脂肪酸が与える破骨細胞の分化誘導・抑制作用を解明していきたい。

O-8

トランス脂肪酸による動脈硬化発症における Toll 様受容体 4 の役割

¹⁾人間総合科学大・健康栄養、²⁾聖徳大・院・人間栄養
○岩崎 有希 ¹⁾、白石 弘美 ¹⁾、横山 嘉子 ²⁾、加納 和孝 ²⁾

【目的】 多くの疫学研究で植物油への工業的な水素添加により生成したトランス脂肪酸が動脈硬化発症のリスクを高めることが明らかにされている。しかし詳細な生化学的解析はなされていない。我々は、これまでの研究で、工業的トランス脂肪酸の主要成分であるエライジン酸が抗動脈硬化タンパク質アディポネクチンの発現を抑制することを明らかにした。エライジン酸が Toll 様受容体 4 (TLR4) を介して、TNF- α 発現を亢進し、アディポネクチン産生を抑制していることも併せて示した。しかしながら動脈硬化発症はマクロファージの分化、泡沫細胞形成を含む複雑な過程である。今回の研究ではこれらの過程に対するエライジン酸の影響と、TLR4 の関与について明らかにすることを目的として解析を行なった。

【方法】 PMA 刺激を行ったヒト単球由来細胞株 U937 細胞を用いエライジン酸が分化過程に及ぼす影響について、複数の指標タンパク質の mRNA 発現はリアルタイム PCR、培地中のタンパク質は ELISA で、食作用については蛍光ビーズの取り込みで解析を行なった。

【結果】 PMA 処理 U937 細胞にエライジン酸を添加すると接着分子 ICAM-1、ヒアルロン酸受容体 CD44 mRNA 発現、スカベンジャー受容体ファミリー CD68 およびメタロプロテアーゼ誘導因子 CD147、好酸球遊走因子 CCL26 mRNA 発現が増加した。さらに炎症性サイトカイン TNF- α タンパク質の産生が増加することも見出した。これまでの研究でエライジン酸は TLR4 を介して細胞内情報伝達を行うことを示したが、今回の研究では、上記の経路も TLR4 が関与するかどうかについて検討した。その結果、TLR4 阻害剤 TAK-242 の添加によりエライジン酸により増加した ICAM-1、CCL26 mRNA 発現及び TNF- α 産生が抑制された。食作用もエライジン酸の添加で亢進が認められた。

【考察】 本研究ではエライジン酸が細菌 LPS センサーである TLR4 を介した情報伝達系を駆動し、炎症性サイトカイン TNF- α 発現を亢進し、アディポネクチンの発現を抑制するだけではなく、マクロファージの分化過程でも TLR4 を介して接着分子及び TNF- α 、CCL26 等の発現を高め動脈硬化を亢進させていることを初めて明らかにした。

O-9

SHRSP におけるカノーラ油摂取による有害効果の探索

¹⁾金城学院大・薬、²⁾北里大学・医療衛生、³⁾岐阜薬科大・薬
○夏目 沙矢香¹⁾、二宮 理紗子¹⁾、西川 真衣¹⁾、内藤 由紀子²⁾、
立松 憲次郎³⁾、大原 直樹¹⁾、奥山 治美¹⁾

【目的】 SHRSP におけるカノーラ油摂取による有害効果を広く調べ、カノーラ油の毒性発現機序を見出すことを目的とした。SHR ではカノーラ油摂取による肝 G6PD 活性の有意な増大が認められているため、SHRSP においても同様の影響が見られるか、また、その際、G6PD mRNA 発現に影響が認められるかを確認した。さらに、内因性ジギタリス様物質の遊離を反映する Na⁺, K⁺-ATPase 活性へ影響が認められるか否かを確認しようとした。

【方法】 雄性 SHRSP にカノーラ油を混餌で 8 週間摂取させたあと、肝における G6PD および Na⁺, K⁺-ATPase の活性とそれらの mRNA 発現への影響を、大豆油摂取動物(対照)と比較した。

【結果】 肝 G6PD 活性は、大豆油摂取群で 52.0±3.34 U/g protein、カノーラ油摂取群で 91.1±5.47 U/g protein であり、カノーラ油摂取群で有意に高かった(p<0.001)。一方、G6PD mRNA 発現には抑制傾向(大豆油:カノーラ油=1.000:0.617, p=0.0568, n=10~11)が見られた。Na⁺, K⁺-ATPase の活性および mRNA 発現には両群で差が認められなかった。CYP27a1 mRNA の発現には抑制傾向(大豆油:カノーラ油=1.000:0.441, p=0.0629, n=6)が見られた。

【考察および結論】 カノーラ油摂取により、SHRSP でも肝 G6PD の活性化が確認された。これは、カノーラ油摂取群に認められる血脂上昇と関連があるかもしれない。また、同様の変化が腎でも認められたため、この影響は全身性のものであろう。SHRSP はカノーラ油摂取によって高血圧症等の背景病態の悪化を起こすことが確認されているので、G6PD 活性上昇を伴う内因性ジギタリス様物質の遊離増大を推定し、Na⁺, K⁺-ATPase 活性およびその mRNA 発現、さらに、内因性ジギタリス様物質生成に関わるといわれる CYP27a1 mRNA の発現を調べたが、これらを明確に関連付ける結果は得られなかった。(利益相反なし)

O-10

ビタミン K によるグルコース応答性インスリン分泌の増強作用

¹⁾東北大院・農・栄養学

○白川 仁¹⁾、何 欣蓉¹⁾、平原 啓甫¹⁾、後藤 知子¹⁾、駒井 三千夫¹⁾

【目的】 ビタミン K(VK)は、VK 依存性タンパク質のグルタミン酸残基の γ 位カルボキシル化を行う酵素 γ -glutamylcarboxylase の補因子として機能し、血液凝固や骨代謝と密接に関連している。天然には植物由来の VK₁(フィロキノン)と主に微生物が産生する VK₂(メナキノン類: MK-n)が存在する。摂取・吸収された VK は様々な臓器においてプレニルトランスフェラーゼ UBIAD1 により VK₂ の一種であるメナキノン-4 (MK-4) へと変換される。MK-4 は、Gla 化を介さない作用(アポトーシス誘導、転写因子 PXR のリガンド活性など)を有することが報告されているが、本変換の生理的意義は十分に解明されていない。MK-4 は、肝臓、骨以外にも、膵臓、筋肉などに多量に存在している。これまで、疫学調査結果などから、VK 摂取量と糖代謝疾患との関連性が示唆されているが、その詳細は未だ不明である。本研究では、膵臓由来 INS-1 細胞を用いて、膵臓に存在する MK-4 がインスリン分泌能に与える影響について解析した。

【方法・結果】 ラット膵臓由来 INS-1 細胞をグルコース、および MK-4 で処理し、培地中に分泌されたインスリンを ELISA 法で測定した。その結果、MK-4 は、グルコース依存性のインスリン分泌を増強した。次に、細胞内 cAMP 量を測定したところ、MK-4 処理により有意に上昇した。A キナーゼの活性化を CREB レポーター遺伝子により評価したところ、MK-4 処理によりレポーター活性は変化しなかった。また、A キナーゼの阻害剤である H89 で処理した場合、MK-4 によるインスリン分泌増強作用は変化しなかった。一方、Epac 阻害剤である ESI-05 処理により、MK-4 によるインスリン分泌増強は低下した。

【考察・結論】 MK-4 は、膵 β 細胞で細胞内 cAMP 量を増加させ、Epac 経路を介して、グルコース依存性インスリン分泌を増強することが示唆された。MK-4 は、精巣ライディッヒ細胞において、アデニル酸シクラーゼを活性化させ、テストステロン産生を上昇させることが示されていることから、膵 β 細胞においても、アデニル酸シクラーゼを活性化させ、インスリン分泌を増強することが示唆された。

O-11

アケビ果皮に含有されるリパーゼ阻害物質による抗肥満作用

¹⁾秋田大・教育文化・生活科学

○佐藤 謙太 ¹⁾、菅原 龍太郎 ¹⁾、木村 裕美子 ¹⁾、池本 敦 ¹⁾

【目的】 アケビは全国に自生し、白くて甘い果肉が食用とされ、種子からは秋田ではかつて食用油がつくられていた。一方で、紫色の果皮は全国的には廃棄されているが、山形と秋田では食用として活用する食文化が保存されている。特徴的な苦味を有し、茄子のような繊維質のやわらかい食感である。地域食資源の有効活用の観点から、果皮の利用を拡大するために機能性を探索した結果、強いリパーゼ阻害作用を示し、食事脂質の吸収を抑制することが示された。今回、これらのメカニズムについて、詳細に検討したので報告する。

【方法】 リパーゼ阻害作用はブタ膵臓リパーゼを用いて測定した。基質には、通常の油脂であるトリアシルグリセロール(TG、トリオレイン)、吸光度の測定可能な p-Nitrophenyl butyrate (pNPB)、市販キットで使用されている水溶性の三酪酸ジメルカプロール(BALB)の 3 種類を用いた。アケビ果皮から 70%EtOH でリパーゼ阻害物質を抽出し、逆相樹脂カラム HP-20 及びシリカゲルカラム、HPLC で単離・精製した。

【結果】 アケビ果皮抽出物は、油脂を経口投与したラットの血中中性脂肪の上昇を顕著に抑制した。雄性 ICR 系マウスに高脂肪食を 8 週間与え肥満を誘導したところ、アケビ果皮抽出物を 2%添加した飼料を与えた群では、糞中に排泄される脂質が増加し、体脂肪蓄積と体重を有意に低下させた。アケビ果皮リパーゼ阻害物質の精製標品は、非競合的に酵素反応を阻害した。また、基質が TG の場合は強いリパーゼ阻害活性が見出されたが、pNPB では阻害作用が弱くなり、BALB では阻害作用が見られなかった。ヒト結腸ガン由来 Caco-2 細胞株を用いて脂質の消化・吸収過程を培養細胞レベルで解析したところ、アケビ果皮リパーゼ阻害物質処理により培地に添加した TG の加水分解で生成する遊離脂肪酸及び吸収・再合成後に分泌される TG が低下し、細胞レベルでリパーゼ阻害効果に基づいた脂質の消化・吸収・再合成過程に対する抑制作用が確認された。

【考察・結論】 アケビ果皮リパーゼ阻害物質は非競合的に基質が脂溶性の高い物質のときに酵素反応を阻害し、培養細胞レベルでも阻害効果が示された。動物実験においても食餌油脂の吸収抑制や排泄 促進が確認され、高脂肪食により誘導される肥満の予防に有効であることが明らかとなった。

O-12

日本食中の脂肪酸の質と量が内臓脂肪蓄積に及ぼす影響

¹⁾東北大院・農

○都築 毅¹⁾、坂本 有宇¹⁾、溝脇 由衣¹⁾、山本 和史¹⁾

【目的】日本の平均寿命は1980年代に世界第1位となり、健康長寿国として知られ、その要因として日本食の影響が考えられている。日本食に含まれる特徴的な成分については数多く研究されているが、日本食そのものが健康状態に及ぼす影響についてはほとんど研究されていなかった。我々は先の研究で、日本食は米国食に比べてストレス性が低く、旺盛な代謝が繰り返され、肥満になりにくいことを明らかとした。さらに、食の欧米化などの食生活の変化が健康へ与える影響を検討するため、現代の食事と過去の食事を比較した。1960年、1975年、1990年、2005年の日本食（国民健康・栄養調査に基づいて作製し、凍結乾燥、粉末化したもの）をマウスに与えたところ、1975年の日本食が最も健康維持に有益であり、その効果はタンパク質・脂質・炭水化物のエネルギーバランスに依存しないことを明らかとした。そこで本研究では、日本食の脂質成分に注目し、様々な年代の日本食の脂肪酸組成の違いが、内臓脂肪蓄積に与える影響を検討した。

【方法・結果】様々な年代の日本食を調理再現し、凍結乾燥粉末化したものから脂質を抽出し、ガスクロマトグラフィー分析に供したところ、n-6 / n-3、飽和脂肪酸 / 一価不飽和脂肪酸 / 多価不飽和脂肪酸 の値はそれぞれ1960年で5.0、1.0 / 1.3 / 1.1、1975年で4.4、1.0 / 1.3 / 0.9、1990年で5.0、1.0 / 1.2 / 0.7、2005年で4.0、1.0 / 1.2 / 0.7であった。これらの割合通りに様々な油脂を混ぜて、試験油脂を調製した。AIN-93G組成の油脂をそれぞれの試験油脂に置換し、ICR mice (5wk、♂) に4週間与えたところ、内臓脂肪量に大きな影響は見られなかった。そのため、脂肪酸組成に加えてタンパク質・脂質・炭水化物の割合も考慮した試験食を与えて検討を行った。AIN-93G組成を改変し、各年代のタンパク質・脂質・炭水化物の割合と脂肪酸組成を再現した試験食をICR mice (5wk、♂) に4週間与えた。その結果、1975年型試験食を摂取したマウスにおいて、内臓脂肪蓄積が有意に抑制され、脂肪細胞サイズも小さかった。

【結論】日本食の内臓脂肪蓄積抑制効果は、脂肪酸の質と量が大きく影響することが示唆された。

O-13

親の食餌脂肪酸が乳仔マウス脳の神経栄養因子産生と プロテインキナーゼに及ぼす影響

¹⁾金城学院大・薬、²⁾金城学院大・生活環境

○宮澤 大介¹⁾、大西 浩之¹⁾、浅井 香穂¹⁾、岩田 真由香¹⁾、郭 麻美¹⁾、
北森 一哉²⁾、山田 和代¹⁾、大原 直樹¹⁾、奥山 治美¹⁾

【目的】 神経成長因子 (nerve growth factor, NGF)、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等の神経栄養因子は神経の新生、分化、維持に必要である。一方、脂肪酸と脳機能については種々の報告がされている。胎生期、乳仔期は脳神経系の重要な形成期であり、この時期は親の食餌の脂肪酸が仔の発育に影響することが想定され、脳神経系の機能や形成に果たす役割は重要であると考えられる。今回は脂肪酸組成、BDNF 量、プロテインキナーゼに注目して親の食餌脂肪酸が乳仔期マウス脳に及ぼす影響を検討した。

【方法】 出産直後の親 ICR マウスに 5% の高リノール酸ベニバナ油 (SAF) 或いはシソ油 (PER) を添加した精製飼料を 2 週間与え、仔マウスに授乳させた。仔の脳皮質、海馬を摘出した。ガスクロマトグラフにより親の食餌と仔の脳の脂肪酸組成を測定し、その相関について検討した。仔の脳について以下の解析をした。BDNF を ELISA 法により定量した。プロテインキナーゼ C (PKC) は相対活性を測定した。またそれ以外のプロテインキナーゼのリン酸化はウエスタンブロットにより解析した。

【結果・結論】 脳皮質、海馬の脂肪酸組成を測定した。SAF 群で DHA が有意に減少していた。また、アラキドン酸量が増加していた。総 n-6 系脂肪酸、総 n-3 系脂肪酸、n-6/n-3 比も親の食餌の脂肪酸組成を反映したものであった。この結果から授乳期の親の食餌脂肪酸が、母乳を介して仔の脳の脂肪酸組成に影響を与えることが明らかとなった。

BDNF 量を定量したところ、海馬では SAF 食で減少していたが、脳皮質では増加していた。解析した領域によって異なる結果であった。脳の領域によって食餌脂肪酸に対する反応性が異なることが示唆された。PKC の活性には両群間に差はなかった。Stress-activated protein kinase/c-jun N-terminal kinase (SAPK/JNK) は脳皮質、海馬ともに SAF 群でリン酸化が低下していた。n-3 系脂肪酸制限により SAPK/JNK の活性が影響を受ける可能性が示唆された。

O-14

DHA 結合型ホスファチジルコリンが概日活動リズムに及ぼす影響

¹⁾仙台白百合女子大・人間、²⁾明治大・農・動物生理学

○大久保 剛¹⁾、立川 直之²⁾、中村 孝博²⁾

【目的】近年、睡眠覚醒リズムなどに表出する概日リズムの乱れがヒトの疾患に密接に関わっていることが明らかになってきている。このため、食事などの環境因子によって、概日リズムを駆動する体内時計を適切に調節することが、セルフメディケーションの観点からも望まれている。本研究では、神経伝達物質の前駆体である「コリン」と魚油に多く含まれ、情動などの精神活動に影響を与える「ドコサヘキサエン酸(DHA)」が 1 分子内にある、DHA 結合型ホスファチジルコリン(PC-DHA)がマウスの概日活動リズムにどのような影響を与えるか検討した。

【方法】4 週令 ICR 雄性マウスを回転輪が付いたプラスチックケージに 1 匹ずつ入れ、明暗条件がコントロールできる飼育箱で飼育した。回転輪の回転数を 1 分毎に Chronobiology kit にて計測し、様々な光条件にてその行動リズムを記録した。飼料は、D10012Mpx2(AIN-93M の脱脂プレミックス粉末) 粉末 93% (w/w) を基本として、コントロール群では、大豆油 7% (w/w)、PC-DHA 群では、大豆油 5% (w/w) + PC-DHA 2% (w/w) 配合したものを使用した。実験期間中、飼料、水は自由摂取にした。マウスが 9 週令に到達してから明暗(12:12 時間)条件 7 日間、恒暗条件 15 日間のリズム記録を行い、再び明暗条件に 2 週間、再同調させてから、6 時間明期の前進を行った(jet lag 実験)。

【結果】明暗条件において、PC-DHA 群はコントロール群に比べ、活動量の亢進が認められ、活動期がコンパクトになっていた。恒暗条件においても、その効果は継続し、さらに PC-DHA 群はコントロール群に比べ、有意に活動リズム周期が延長した。Jet lag 実験においては、再同調が完了する日数に差はなかったが、PC-DHA 群で活動期がよりコンパクトになることが観察された。

【考察】PC-DHA はヒトの睡眠においてレム睡眠を適切な量に調節することが報告¹⁾されており、本研究でも、「早起き型」すなわち、周期が短くなると予想した。しかし、結果は周期が長くなる傾向を示した。核内受容体 PPAR α を介し体内時計を制御していることが報告されている²⁾。このため、DHA が体内時計の制御に関与する可能性が示唆され、コリンもアセチルコリンの前駆体であることが知られているので、これらの化合物が 1 分子内にあることで、複数の作用機序が同時に働き、今回の結果をもたらしたと推察できる。今後は、他の構造のコリン化合物や DHA による試験を行い、作用機序の検証を行う。

参考文献 1) 日本睡眠環境学会雑誌, 8(1), 9-14, 2011

2) Biochem Biophys Res Commun., 357(3), 679-82., 2007

O-15

α -リノレン酸結合型リン脂質による非アルコール性 脂肪肝炎改善作用

¹⁾弘前大・農学生命科学、²⁾興人ライフサイエンス(株)

○前多 隼人¹⁾、堂黒 翔太¹⁾、梶 直人²⁾ 安孫 健一²⁾

【目的】 高度不飽和脂肪酸の体内への取り込みはリン脂質型の方がトリグリセリド型よりも優れていると言われている。クリルオイル(KO)にはDHA・EPA 結合型リン脂質が豊富に含まれ、すでに脂質異常症の予防改善作用や抗炎症作用を示す食品素材として利用されている。一方でDHA、EPA 以外のn-3系脂肪酸結合型リン脂質の機能性については検討例が少ない。そこで本研究ではn-3系脂肪酸である α -リノレン酸結合型リン脂質を多く含むトルラ酵母残渣由来脂質(TO)、及び比較対象としてDHA・EPA 結合型リン脂質のKOによる非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の改善作用について比較検討を行った。

【方法】 乾燥酵母残渣よりエタノールにて脂質成分を抽出した後、カラムクロマトグラフィーによりリン脂質高含有画分を精製した。4週齢の雄のC57BL/6Jマウスを1週間の予備飼育後、高脂肪食にて7週間飼育し、食事性肥満マウスを作成した。作成した肥満マウスをコントロール群(豚脂 23%、大豆油 7%)、TO群(豚脂 23%、大豆油 2%、TO 5%)、KO群(豚脂 23%、大豆油 2%、KO 5%)に分け、6週間実験飼育を行った。実験飼育終了後に解剖を行い、各臓器及び脂肪組織重量、血漿成分を測定した。又、肝臓中の炎症性サイトカインの mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法により分析した。

【結果】 3群間で臓器及び脂肪組織重量に有意な変化は見られなかった。一方、肝臓の炎症の指標である血漿中の GOT (glutamic oxaloacetic transaminase)、GPT (glutamic pyruvic transaminase) 値はコントロール群と比較して TO 群及び KO 群で有意に低下した。又、肝臓中の IL-6、TNF- α 、COX-2、iNOS、IL-1 β 、MCP-1 の mRNA 発現量は、コントロール群と比較して TO 群及び KO 群で低下傾向又は有意に低下した。以上の結果から、酵母残渣由来の α -リノレン酸結合型リン脂質はDHA・EPA 結合型リン脂質と同様の機能を示し、肝臓において抗炎症作用を示すことによりNASHを改善することが示唆された。

O-16

NASH 薬・改善食材探索法の確立と新規鑑別マーカーの開発

¹⁾秋田県総合食品研究センター、²⁾株式会社スカイライト・バイオテック
○畠 恵司¹⁾、佐々木 玲¹⁾、樋渡 一之¹⁾、戸嶋 彦²⁾、木村 文子²⁾、三浦 瑞穂²⁾、岩間 由香²⁾、中川 志穂²⁾、田中 秀子²⁾、大類 はるな²⁾、高橋 純一郎²⁾

【目的】 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、メタボリック症候群が蔓延し始めた我が国でも、患者が増大すると考えられている病態である。従来の NASH 診断方法は、肝臓に太く長い針を刺して組織の一部を採取し調べる「肝生検」が必須で、低侵襲性マーカーの開発は急務であった。また、迅速・簡便に NASH を鑑別できるマーカーは、創薬においても重要である。我々は横浜市立大学医学部と共同で、NASH 患者では血液中の遊離コリンが高値であることを突き止め、診断業務を開始している¹⁾。本研究では NASH モデル動物を作成し、血漿中の遊離コリン濃度やリポタンパク質プロファイルを解析し、これらマーカーが、主として創薬においても有効かどうかを検討した。

【方法】 SD ラットを 3 群 (各群 7 匹) に分け、普通食 (コントロール群)、高脂肪食 (脂肪肝モデル群)、コリン・メチオニン欠乏食 (NASH 群) を 11 週間給与した後、一週間通常食に戻し飼育した。肝臓について重量計測ならびに HE 染色を行った。血漿は、遊離コリンおよび LipoSERACH[®] 分析など各種生化学分析に供した。

【結果】 コントロール群と比較して、NASH 群では肝臓の大脂肪滴蓄積ならびに血漿中のヒアルロン酸高値など、特有のマーカーが確認できた。LipoSEARCH[®] の結果、NASH 群は、キロミクロン中の中性脂肪値上昇および VLDL の大粒子化など、ヒト NASH 患者で確認されたリポタンパク質代謝異常が認められた。さらに、NASH 群のラットの血漿中の遊離コリン濃度は、コントロール群ならびに脂肪肝モデル群と比較して、有意に上昇していた。

【考察・結論】 肝臓切片の HE 染色画像ならびに血漿マーカーからコリン・メチオニン欠乏食の長期間摂取により、SD ラットにおいても NASH が誘発された。NASH 誘発ラットを、さらに一週間通常食を与えることで、血漿中の遊離コリンの蓄積がみられ、ヒト臨床研究での結果と一致する評価系が構築できた。また、血漿中の遊離コリン濃度やリポタンパク質プロファイルは、NASH の診断マーカーであると共に、創薬における病態の評価マーカーとしても有効であることが示唆された。

1) Imajo K et al., *Hepatol. Res.* 42: 757-766 (2012)

P-1

DHA 強化食品摂取による認知機能向上効果に関する 高齢者レスポonderの栄養的特長

¹⁾島根大・医、²⁾島根県大・看、³⁾(社医)仁寿会加藤病院
○橋本 道男¹⁾、山下 一也²⁾、加藤 節司³⁾、大野 美穂³⁾、
田邊 洋子¹⁾、紫藤 治¹⁾

【目的】我々は 2008 年からドコサヘキサエン酸 (DHA) 強化食品による高齢者の認知機能への影響に関するヒト介入試験を行ってきた。今回、高齢者が摂取する機能性食品とその効果に及ぼす影響因子を検討するために、DHA 強化食品による認知機能向上効果を示した高齢者の栄養的特長について解析を行った。

【方法】2008～2010 年から実施した介入試験「川本町在住高齢者の研究長寿に及ぼす DHA・EPA 強化ソーセージの影響を検討する介入試験」¹⁾と、2012 年から実施した介入試験「栄養と有酸素運動による認知症予防・改善効果の検証ーヒト介入試験」²⁾に参加した高齢・超高齢者のうち、DHA 強化食品を摂取していた参加者 130 名を対象として再解析を行った。130 名のうち、DHA 強化食品を 1 年間摂取することにより、認知機能評価法のひとつであるミニメンタルステート試験 (MMSE) の総合点が変化しなかったか増加した参加者を DHA 強化食品にたいするレスポonder (60 名、平均年齢 73.2 歳) とし、総合点が低下した参加者をノンレスポonder (70 名、平均年齢 76.6 歳) とした。両群を比較するために、DHA 強化食品を摂取する直前の検診により得られた各種基礎値を比較検討した。本研究を実施するにあたり、島根大学ヒト研究のための倫理委員会と加藤病院倫理委員会から承認を得たうえで、参加者へ説明を実施した後、各自から同意書を得た。

【結果】ノンレスポonderとレスポonderの比較: 1) 正常範囲内であるが、血清の LDL-コレステロールと HbA1c はレスポonderで有意な高値を示した。2) レスポonder群では、血清中のエイコサペンタエン酸 (EPA)、DHA、赤血球膜の α -リノレン酸は有意に増加し、赤血球膜のパルミチン酸と n-6 系脂肪酸と n-3 系脂肪酸の比 (n-6/n-3) は有意に低下した。

【結論】高齢・超高齢者は低栄養の場合が多いが、DHA 強化食品に対する効果は日常的に n-3 系脂肪酸を多く摂取している高齢者にもたらされるかもしれない。

【参考文献】 1) Hashimoto M *et al.*, (2012) *J. Aging Res. Clin. Pract.* 1(3): 193-201.
2) Hashimoto M *et al.*, (2016) *Geriatr. Gerontol. Int.* in press.

P-2

オメガ3系脂肪酸が高エネルギー外傷患者における 心的外傷後ストレス障害の精神生理症状に与える影響

¹⁾北海道大・情報科学、²⁾武蔵野大・通信、³⁾国立精神・神経医療研、⁴⁾富山大・医、
⁵⁾富山城南温泉第二病院、⁶⁾国立がん研
○松村 健太¹⁾、野口 普子²⁾、西 大輔³⁾、浜崎 景⁴⁾、浜崎 智仁⁵⁾、松岡 豊⁶⁾

【目的】 精神生理症状(心拍数の上昇など)は心的外傷後ストレス障害(PTSD)の主要な特徴の1つである。オメガ3系脂肪酸には PTSD の精神生理症状を予防する効果があると考えられているが、臨床データは存在しない。そこで本研究では、高エネルギー外傷患者を対象としたランダム化比較試験を実施した。

【方法】 デザイン： 単一施設、層化(性、年齢、生命の危険)、ランダム化(比1:1)、二重盲検、プラセボ対照、並行群間比較試験であった。TPOP trial (NCT00671099)の一環として実施した(Matsuoka et al., 2013, BMC Psychiatry)。参加者： 83 名の高エネルギー外傷患者であった。介入： 300 mg×7 カプセルを1日量として12 週間、イベント直後より経口摂取した。1 日当たり、オメガ3群には1,470 mg の DHA と 147mg の EPA、プラセボ群には 987 mg の菜種油、525 mg の大豆油、オリーブオイル、63 mg の魚油が含まれていた。課題： スクリプト法(Pitman et al., *Biol Psychiatry*, 2002)を介入開始から3ヶ月後に実施した。実験手続き： 3分間の順応区間に続く30秒間の安静区間、30秒の事故場面要約台本(=スクリプト)の読み上げ、30秒の事故場面のイメージ、30秒の回復であった。測定指標： 心拍数(HR)、皮膚コンダクタンス(SC)であった。分析： 安静、イメージ区間の HR、SCL それぞれの平均値に対して、介入(オメガ3、プラセボ)と区間(安静、イメージ)を要因とする混合計画分散分析を実施した。

【結果】 HR において、介入の主効果のみが有意であった(オメガ3群<プラセボ群)。SC では、有意な主効果、交互作用共に認められなかった。

【考察】 オメガ3系脂肪酸には、事故から3ヶ月後時点における PTSD の精神生理症状を一部予防する効果があることが明らかとなった。この背景として、オメガ3系脂肪酸による迷走神経系の活動亢進、あるいは、心血管機能の向上といった機序が考えられた。

【結論】 高エネルギー外傷患者に対するオメガ3系脂肪酸の投与は、心的外傷後ストレス障害の精神生理症状の2次予防という点において有効であった(Matsumura et al., *J Affect Disord*, in press)。

P-3

妊娠中期における抑うつ症状と血中
n-3 系多価不飽和脂肪酸に関するケース・コントロール研究

¹⁾富山大・医、²⁾麻布大・生命・環境科学

○浜崎 景¹⁾、原馬 明子²⁾、守口 徹²⁾、稲寺 秀邦¹⁾

【目的】我々は前回の日本脂質栄養学会第 24 回大会にて、妊娠前期における抑うつ症状と血中 n-3 系多価不飽和脂肪酸との逆相関関係が認められたことを報告した。そこで今回妊娠中期における抑うつ症状と血中 n-3 系多価不飽和脂肪酸との関連を調査したので報告する。

【方法】データセットは、環境省の「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」の富山ユニットセンターで実施した追加調査「血中脂肪酸組成と母子の健康に関する調査」を使用した。抑うつ尺度としては Kessler Psychological Distress Scale (K6)を使用し 13 点以上を抑うつ“有り”とした(n=71)。さらに 13 点未満で、年齢・最終学歴・世帯収入でマッチさせた 142 名を対照として、ケース・コントロール研究を行った。血清脂肪酸はガスクロマトグラフィーにて測定し、抑うつ症状のオッズ比はロジスティック回帰分析にて解析した。

【結果】参加者の背景については、すべての項目(喫煙状況・妊娠前 body mass index・就業の有無・出産歴・身体活動・婚姻状況・アルコール摂取状況・つわりの有無・内服歴)において両群間で有意差は認められなかった。また血清脂肪酸の比較においては、両群間で特に有意差は認められなかった。上記の共変量で補正したロジスティック回帰分析の結果では、抑うつ症状のオッズ比はどの血中 n-3 系多価不飽和脂肪酸においても有意な関連は認められなかった。

【考察】妊娠中期における抑うつ症状と血中 n-3 系多価不飽和脂肪酸に関する調査を行ったが、特に関連は認められなかった。前回の調査(妊娠前期)では逆相関関係が認められたが今回の妊娠中期で認められなかった理由としては、胎児形成における n-3 系多価不飽和脂肪酸の需要のばらつきなどの影響が考えられた。今後はさらに産後うつ等も含めて時期を変えて調査を継続していく。

P-4

母乳の成分分析を通じた児の栄養摂取状況に関する考察
-エコチル調査の追加調査より-

¹⁾女子栄養大・栄養、²⁾(株)明治・食機能科学研究所、

³⁾東北大院医・発達環境医学

○川端 輝江¹⁾、香川 靖雄¹⁾、鈴木 美記子²⁾、長田 昌士²⁾、
龍田 希³⁾、仲井 邦彦³⁾

【目的】 母乳中のエネルギー量に占める脂質比率が低いことや多価不飽和脂肪酸の含量が少ないことは、児の発育・発達に中長期的に影響を及ぼす可能性がある。そこで、児の栄養摂取状況の推察を目的に、環境省が進めている「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」の追加調査で得られた母乳の成分分析を実施した。

【方法】 エコチル調査は環境省が進めている全国 10 万人規模の出生コホート調査である。我々は石巻市～気仙沼市の四市町在住の参加者を対象に、母児の栄養疫学調査をエコチル調査の追加調査として実施している。参加者 352 名から協力を得て収集した母乳(産後 7 ヶ月)のたんぱく質、脂質、糖質、灰分、ならびに固形分含量の分析を実施し、エネルギー濃度を算出した。また、母乳中の脂肪酸含量を GC 法により分析した。各種データは、エネルギー濃度により四分位に分け、エネルギー濃度の低い第 1 四分位を「低 E」群、第 2 四分位を「やや低 E」群、第 3 四分位を「やや高 E」群、第 4 四分位を「高 E」群として解析を行なった。

【結果】 各群の平均エネルギー濃度は、低 E 群が 45.8kcal/100ml、やや低 E 群が 57.1kcal/100ml、やや高 E 群が 65.7kcal/100ml、高 E 群が 80.9kcal/100ml であった。石巻住民由来母乳の約 28%および気仙沼住民由来母乳の約 19%が低 E 群に属し、エネルギー濃度の低い母乳は地域によらず存在した。低 E 群の母乳のエネルギー量に占めるたんぱく質(P)、脂質(F)、炭水化物(C)比率は、9.2:25.4:65.4 であった。さらに、低 E 群では、DHA を含む全ての脂肪酸の含量が少ない傾向を認めた。

【考察】 泌乳期の近い日本人母乳の過去の報告値におけるエネルギー濃度は 61.6kcal/100ml、P:F:C 比率は 7.3:44.2:48.5 である。この数値にほぼ一致したのは、本研究対象者におけるやや低 E 群およびやや高 E 群であった。低 E 群に属する母乳のエネルギー濃度は、過去の報告値に比べて約 74%であり、低脂質、高炭水化物乳であることが示された。

【結論】 低 E 群に属する母乳を継続的に乳児が摂取した場合、エネルギー摂取量が不足する可能性があることから、今後乳児の成長・発達を含めたさらなる検討が必要と考える。

P-5

妊娠中の偏った多価不飽和脂肪酸摂取は仔の 大脳新皮質形成を妨げ不安を高める

¹⁾福島医大・医、²⁾理研・統合生命医科学研究センター、³⁾東北大・医
○酒寄 信幸¹⁾、有田 誠²⁾、大隅 典子³⁾

【目的】 多価不飽和脂肪酸(PUFA)は脳形成や脳機能に重要な栄養素である。特に n-6 および n-3 PUFA は代謝・輸送において競合するため、バランスよく摂取する必要がある。しかし現在では、世界中の多くの国々において n-6 PUFA 摂取過多や n-3 PUFA 摂取不足が報告されている。本研究ではマウスを用い、妊娠中における n-6 過多/n-3 欠乏飼料摂取による仔の大脳新皮質形成および脳機能への影響を評価した。

【方法】 n-6 および n-3 PUFA がバランスよく配合されたコントロール飼料または n-6 PUFA 過多/n-3 PUFA 欠乏飼料を、妊娠前から妊娠期、保育期にかけて野生型マウスに投与し、仔の大脳新皮質形成を評価した。その後は両群に標準飼料を投与し、仔の行動解析を行った。

【結果】 n-6 過多/n-3 欠乏飼料を投与された胎仔において、大脳新皮質の神経細胞層の厚さに減少が見られた。同様の表現型は生後の大脳新皮質においても確認された。続いて細胞生物学的機序を解明するため、胎生期神経幹細胞の初代培養系を用いた解析を行ったところ、n-6 過多/n-3 欠乏飼料を投与された胎仔の神経幹細胞の分化運命が、神経細胞からグリア細胞へ早期に転換していることが分かった。さらに作用機序を解明するため、これらの PUFA の代謝産物を網羅的に定量したところ、n-6 過多/n-3 欠乏飼料を投与された胎仔脳において n-6 由来のエポキシドが増加し、n-3 由来のエポキシドが減少していることが分かった。これらのエポキシドの神経幹細胞における効果を実際に評価すると、n-6 由来のエポキシドは神経幹細胞の分化運命をグリア細胞へ転換し、n-3 由来のエポキシドは分化運命を神経細胞へ保つ効果があった。最後に、このような発生異常が将来の脳機能に及ぼす影響を解析するため、生後 10 日目以降は両群に標準飼料を投与し、成体において不安行動を解析した。すると、n-6 過多/n-3 欠乏飼料を投与されていた仔マウスに不安行動の増加が認められた。

【考察】 n-6 摂取過多/n-3 摂取不足によって、胎仔脳におけるエポキシドのバランスが乱れ、神経幹細胞の分化運命がグリア細胞へ傾き、大脳新皮質の形成が妨げられ、不安行動の増加につながった可能性が考えられる。

【結論】 本研究は現代における n-6 PUFA 過多/n-3 PUFA 欠乏という脂質摂取状態に対して警鐘を促すものである。

P-6

血液網膜関門を介した網膜からのポリアミン排出輸送機構の解明

¹⁾富山大・医学薬学研究部(薬学)

○久保 義行¹⁾、三浦 宏明¹⁾、富瀬 彩加¹⁾、赤沼 伸乙¹⁾、細谷 健一¹⁾

【目的】 生理活性アミンであるポリアミン(プトレシン、スペルミジン、スペルミンなど)に関しては、細胞増殖および分化などへの関与が知られ、近年では、その脂質代謝・蓄積への関与も示唆されるようになっている。網膜では、スペルミジンやスペルミンの前駆体であるプトレシンが視細胞の発達に関与する一方、神経節細胞の興奮毒性を増強することが報告されており、網膜での至適なプトレシン濃度調節は視覚機能の維持に必須な生理機構と推測される。網膜神経組織と循環血液間での特異的な物質交換は血液網膜関門 (blood-retinal barrier; BRB) を介して行われることから、本研究では、内側血液網膜関門 (inner BRB) を介したプトレシン輸送機構の解明を目的とした。

【方法】 個体における BRB を介した^[3H]プトレシン輸送は、ラット microdialysis 法を用いて解析した。また、inner BRB における^[3H]プトレシン輸送機構は、inner BRB の *in vitro* モデル細胞である条件的不死化ラット網膜毛細血管内皮細胞株 (TR-iBRB2 細胞) を用いて解析した。

【結果】 Microdialysis 法を用いた解析において、硝子体内投与された^[3H]プトレシンの消失速度定数は bulk flow マーカーに比して顕著に高い値を示し。また、この消失速度定数は非標識プトレシンおよび非標識スペルミン存在下において有意に減少した。TR-iBRB2 細胞を用いた解析において、^[3H]プトレシン輸送は温度依存性および濃度依存性を示し、その輸送はポリアミン類(プトレシンやスペルミジン、スペルミン)の存在下において顕著に阻害された。

【考察】 Microdialysis 法を用いた *in vivo* 解析において、プトレシンは BRB を介して網膜から循環血液へと排出されること、また、この機構は BRB に存在するトランスポーター分子によって担われることが示唆された。さらに、モデル細胞を用いた *in vitro* 解析において、inner BRB を介した網膜から循環血液へのプトレシン輸送に未知のポリアミントランスポーターの関与が示唆された。

P-7

オメガ 3 系脂肪酸による脂肪細胞及び筋肉細胞の分化制御

¹⁾秋田大・教育文化・生活科学

三浦 愛里¹⁾、○三澤 りえ¹⁾、佐藤 瑞貴¹⁾、鎌田 友紀¹⁾、黄 鐘倩¹⁾、池本 敦¹⁾

【目的】 オメガ 3 系脂肪酸は間葉系幹細胞の分化に影響し、これまでの研究で脂肪細胞への分化を抑制する一方で、筋肉細胞への分化を促進する作用を持つことが分かっている。本研究では、培養細胞系及びマウス臓器・組織にける遺伝子発現プロファイル进行分析し、オメガ 3 系脂肪酸による分化制御のメカニズムを解析したので報告する。

【方法】 培養系ではマウス由来の脂肪前駆細胞 3T3-L1 及び筋芽細胞 C2C12 を用いた。定法に従って分化誘導し、20 μ M DHA または α -リノレン酸で処理した際の影響を比較した。また、食餌の影響を検討するために、牛脂(高飽和・一価不飽和脂肪酸)、月見草油(高リノール酸)、シソ油(高 α -リノレン酸)、魚油(高 DHA)を各重量比 10% 添加した飼料を 4 週齢の雄性 ICR 系マウスに 8 週間摂取させ、内臓脂肪(精巣上体及び腸間膜脂肪)と筋肉(長趾伸筋およびヒラメ筋)を採取した。細胞及び臓器・組織から RNA を抽出し、Real-time PCR 法で mRNA 発現を定量した。

【結果】 3T3-L1 脂肪細胞では、PPAR γ 、C/EBP β 、C/EBP α 、FABP4、Acox1 の発現は DHA 処理で分化誘導初期は促進されたが、後期では抑制された。Adipoq、SCD1、FAS の発現は、DHA 処理でいずれの期間も発現が強く抑えられていた。マウス内蔵脂肪では、PPAR γ 、C/EBP α 、C/EBP β 、C/EBP δ 、Gpam、FAS、SCD1、FABP4、Adipoq の発現は牛脂群で高く、特に SCD1 の発現は魚油群で顕著に低かった。C2C12 筋細胞では、 α -リノレン酸処理により Myog の発現が顕著に上昇した。マウス筋肉では、ヒラメ筋と長趾伸筋のいずれも Acox1 の発現が魚油で最も高かった。また、PGC-1 の発現が魚油とシソ油で高く、Myog の発現はシソ油で高かった。

【考察・結論】 DHA 処理した 3T3-L1 細胞では、小型の脂肪細胞形成が促進され、大型化への分化成熟が抑制される遺伝子発現プロファイルを示した。また、 α -リノレン酸が培養細胞系で筋細胞特異的転写因子 Myog の発現を促進し、同様の効果が高 α -リノレン酸油を摂取したマウス筋肉組織でも確認された。以上の結果は、オメガ 3 系列脂肪酸がメタボリック症候群などの生活習慣病予防においても重要であるという科学的な裏付けの強化につながると考えられる。

P-8

魚油とリンゴポリフェノール摂取がラットの糞中胆汁酸排泄に及ぼす影響

¹⁾千葉県立保健医療大・栄養
○細山田 康恵¹⁾、山田 正子¹⁾

【目的】近年、メタボリック症候群の予防や改善を期待した食品への注目が集まっており、n-3系脂肪酸を多く摂取した場合の血清脂質低下効果については知られている。これらの脂質代謝をさらに改善するために、特定保健用食品の素材に用いられるポリフェノール化合物に注目した。魚油とリンゴポリフェノールを同時に摂取した際に、糞中胆汁酸排泄に及ぼす影響と内臓脂肪重量、血清及び肝臓脂質濃度、生体内酸化ストレスなどについて検討することを目的とした。

【方法】4週齢雄 Sprague-Dawley 系を用いて、4週間実験飼料を投与した。実験飼料には、AIN-93 組成に準じた基礎飼料に、10%油脂を設け、コレステロール 0.5%とコール酸ナトリウム 0.25%添加し、高コレステロール食とした。ラットを対照 (Control) 群とし、リンゴポリフェノール (Apple Polyphenol : AP) 群、魚油 (FO) 群、魚油とリンゴポリフェノール (FO+AP) 群の4グループにわけ、各群6匹ずつとした。実験投与終了後、後腹壁脂肪重量、睾丸周辺脂肪重量、血清及び肝臓脂質濃度などの測定を行った。糞に関しては、実験期間終了前の3日間の採糞を行い、糞中胆汁酸の測定を行った。

【結果】総飼料摂取量、体重増加量、肝臓重量に差はなかった。後腹壁脂肪重量は、AP群よりFO+AP群で有意に低値を示し、睾丸周辺脂肪重量は、Control群とAP群よりFO+AP群で有意に低値を示した。血清および肝臓中の総コレステロール濃度は、Control群とAP群よりFO群とFO+AP群で有意に低値を示した。血清遊離脂肪酸は、Control群よりFO群とFO+AP群で有意に低値を示した。糞重量は、Control群とFO群よりAP群とFO+AP群で有意に高値を示し、糞中胆汁酸濃度は、Control群よりAP群、FO群、FO+AP群で有意に高値を示した。

【考察】ラットに魚油とリンゴポリフェノールを同時に摂取した際、体外への胆汁酸排泄が増大し、体内脂肪蓄積量や血清および肝臓コレステロール濃度低下につながったと考えられる。

【結論】魚油とリンゴポリフェノールの同時摂取における食生活の改善が、メタボリックシンドロームの予防、改善に役立つことが期待される。

P-9

脳虚血モデルマウスにみられる摂食障害に対する ω 3系脂肪酸の軽減効果

¹⁾帝京大・薬、²⁾富山大・和漢研、³⁾赤江クリニック
○道志 勝¹⁾、渡辺 志朗²⁾、藤田 恭輔²⁾、富岡 直子¹⁾、
細山田 真¹⁾、赤江 豊³⁾

【目的】 ω 3 系脂肪酸は、アラキドン酸代謝系と競合し、アラキドン酸由来の脂質性ケミカルメデイエーターの産生を抑制することで抗炎症効果を発揮する。我々は、これまでに α -リノレン酸添加飼料の給餌がマウス一過性脳虚血モデルにおける脳浮腫の発生を軽減することを報告した。本研究では、マウス一過性脳虚血モデルにおける海馬神経細胞死の発生と我々が新たに着目した一過性脳虚血後にみられる摂食量および体重の減少に対する α -リノレン酸添加飼料の給餌の影響を調べた。

【方法】 5 週齢雄性 C57BL/6 系マウスに α -リノレン酸高含有エゴマ油 (ω 3 食) およびリノール酸高含有ベニバナ油 (対照食) を 10% 添加した飼料を 4 週間与えた。1.5% イソフルラン吸入麻酔下にてマウスの両側総頸動脈 (BCCA) を血管狭窄用クリップで 15 分間閉塞した後、クリップを外して血液を再灌流させた。再灌流 3 日後の海馬中のヌクレオソーム含量を測定し、海馬神経細胞死の発生を評価した。また、BCCA 閉塞 1 週間前から各マウスの摂食量と体重を測定し、一過性脳虚血による影響を調べた。

【結果】 海馬神経細胞死の発生は、対照食群と ω 3 食群との間で差はなかった。対照食群において、再灌流 1 日後の摂食量および体重は、一過性脳虚血前に比べて有意に減少したのに対して、 ω 3 食群ではそれらの有意な減少は生じなかった。

【考察】 我々は以前に α -リノレン酸を多く含む飼料をマウスに与えることによって、LPS 投与により誘発される摂食量と体重の減少が軽減されることを報告した。この LPS 誘発性摂食障害はアラキドン酸のシクロオキシゲナーゼ代謝物であるプロスタグランジンが重要な役割を果たしていると考えられており、 ω 3 系脂肪酸は、プロスタグランジンの産生亢進を抑制することによって、LPS 誘発性摂食障害を軽減させると考えられる。つまり、これと同様の機構を介して、 ω 3 系脂肪酸が一過性脳虚血によって生じる摂食障害に対しても軽減効果を発揮していると推定できる。

P-10

アントシアニン含有茶品種「サンルージュ」の 遊泳持久力改善効果に摂取脂質が与える影響

¹⁾農研機構

○白井 展也 ¹⁾

【目的】 社会の高齢化に伴い、健康長寿への要望が高まっている。健康長寿のためには、食事の改善だけでなく、日々の運動も重要である。緑茶にはカフェインやカテキンが含まれており、これらの成分が運動時の疲労軽減に関連していることを示唆するデータも発表されている。このため、緑茶の摂取は、運動に有用であると考えられる。農研機構では、アントシアニン含有茶品種「サンルージュ」(SR)を開発した。本学会において、SR の脂質吸収阻害効果を報告した。また、これまでに SR にも遊泳持久力改善効果があることを、マウスを使った実験で明らかにした。しかしながら、ddy マウスでは、改善効果が認められなかった。そこで本研究では、摂取脂質による、改善効果の改善を試みるとともに、軽減効果のメカニズム解明を目的とした。

【方法】 9 週齢の雄 ddy マウスに、ラードまたは魚油を 5% 混合した調製飼料を 8 週間摂取させた。SR 熱水浸出液または蒸留水 (DW) を経口投与し、30 分後おもりを付与して水深 25cm のプラスチック水槽で、遊泳限界までの時間を測定した。遊泳試験は、2 日の休息の後、投与試料を入れ替えて再度行った。最終遊泳試験終了 5 日後、試料溶液を投与し、30 分後イソフルラン麻酔下で、血漿、肝臓、および大腿部筋肉を採取した。

【結果】 マウスの遊泳時間は、ラード群および魚油群ともに、DW 投与に比べて、SR 投与で伸びる傾向を示したが、ラード群においてその伸びは顕著であった。ラード群は、魚油群に比べて血漿中性脂肪が高く、SR 投与により低下する傾向を示した。血漿 NEFA は、ラード群でのみ、SR 投与による有意な上昇が認められた。血漿グルコースは、両群とも SR 投与により下がる傾向を示した。

【考察】 血漿中性脂質が多いラード群で、SR 投与により遊泳時間の伸びが高く、血漿 NEFA 含量も高いことから、これまで認められた SR 投与による遊泳持久力改善効果には脂質代謝の促進が関係していると考えられた。一方、魚油群で顕著な改善効果が認められなかったことは、脂質代謝がすでに高く、また中性脂肪含量が低いことによると考えられた。

【結論】 サンルージュ投与による遊泳持久力改善効果は、摂取脂質により変化し、その効果には脂質代謝の促進が関係していることが示唆された。

P-11

2 種の Wistar 系ラットに高脂肪食の及ぼす影響

¹⁾金城学院大・薬、²⁾仙台白百合女子大・人間、³⁾日油(株)

○山田 和代¹⁾、黒田 詩織¹⁾、後藤 芹菜¹⁾、大西 浩之¹⁾、宮澤 大介¹⁾、
津嶋 宏美¹⁾、大久保 剛²⁾、日比野 英彦³⁾、大原 直樹¹⁾、奥山 治美¹⁾

【目的】 ラットやマウスには高脂肪食により体重増加等がみられる系統があり、*metabolic syndrome* のモデル動物として用いられて来ている。しかし、高脂肪食で体重増加の見られない系統もあり、我々はその一つである Wistar(SLC)における高脂肪食の影響について報告して来た。今回、高脂肪食で体重増加の見られる系(J1a)についても同様に、3 種の 20%脂質添加食で飼育したところ、SLC 系と異なり、J1a では魚油を含む3種の高脂肪食のいずれについても体重の有意の増加がみられ、摂取カロリーも増加した。このことから、摂食量に影響する種々のパラメータにつき両者の差異を検討した。

【方法】 SLC Wistar、J1a Wistar を基準食及びラード(L)、大豆油(S)、魚油(F)をそれぞれ 20%基準食に添加した高脂肪食で 13 週飼育し、体重と摂食量を記録した。13 週後の絶食時に麻酔下、心臓採血し、血漿、各臓器を摘出、重量測定後、-80℃で凍結保存した。血漿については、一般生化学分析と、ELISA 法による、*insulin*、*adiponectin*、*leptin*、*ghrelin* の定量を行った。また視床下部 RNA を用い、qPCR によりいくつかのタンパク質の mRNA を定量した。

【結果および考察】 血漿中の *insulin* と *leptin* 量は魚油を除く高脂肪食群で増加し、2 系統で差はみられなかった。一方、*adiponectin* 量は J1a では有意の変化が認められなかったが SLC では高脂肪食で減少した。

視床下部の食欲関連の mRNA についての qPCR では、食欲を亢進させる *Neuropeptide Y* の発現が SLC ではいずれの高脂肪食群でも基準食群と比較し、有意な減少が認められた。一方 J1a では高脂肪食の影響は見られなかった。また *AMP kinase* subunit の mRNA 量にも同様のパターンが見られた。一方、*ghrelin*、や *leptin* の受容体、*corticotropin releasing hormone*、*pre-melanin concentrating hormone*、などの発現量には2系統での高脂肪食に対する応答に差異は見られなかった。このことから J1a 系の多食傾向には、SLC 系の高脂肪食で見られる *adiponectin* の関与する食欲増進系の抑制が見られないことが一因となっていると考えた。

P-12

肥満や食事の質が食欲抑制因子の オレオイルエタノールアミドと摂食行動に与える影響

¹⁾理化学研究所統合生命医科学研究センター、²⁾UC Irvine

○五十嵐 美樹^{1) 2)}、Piomelli Daniele²⁾

【目的】 腸管は第 2 の脳とも言われ、栄養素を吸収するだけでなく、栄養素を感知して消化管ホルモンやシグナリング物質を分泌して代謝調節や摂食行動に関わる重要な臓器である。肥満の腸管では栄養素を感知する能力や消化管ホルモンの分泌などの生理機能の低下が明らかになってきた。オレオイルエタノールアミド(OEA)は腸管で合成される脂肪酸エタノールアミドの一つであるが、我々の過去の研究成果により OEA が食欲抑制作用を示す脂質メディエーターであることや食事由来のオレイン酸が腸管で OEA に転換されることが明らかになった。そこで本研究では、肥満状態や高脂肪食や高スクロース食を摂取させた場合の腸管での OEA の合成、腸管の栄養素の感知能力の変化および摂食行動への影響について検討した。

【方法】 高脂肪食を長期間投与して肥満を誘導したラットとマウスの腸管の OEA を含む脂肪酸エタノールアミドを分析した。また、高脂肪食と高スクロース食を短期間摂取させた場合の腸管の脂肪酸エタノールアミドを分析した。さらに、高脂肪食を短期間摂取させたマウスの腸管に栄養素を注入した後のエネルギー摂取や摂食行動について観察した。

【結果】 正常動物の小腸では摂食後 30 分で OEA の量が摂食前と比べて 6 倍に増加したが、肥満動物の小腸ではその量が変化せずに低値であった。肥満を誘導する高脂肪食や高スクロース食を短期間摂食させた場合でも肥満動物と同じ様に OEA が低値を示した。正常マウスでは十二指腸に脂質を注入すると腸管の OEA の量が増加して摂取エネルギーが低下するが、肥満マウスでは OEA は低値であるが摂取エネルギーが低下した。摂食行動を詳細に調べると正常動物の場合は脂質注入後の摂食回数が減少したが、肥満動物の場合には摂食回数は不変だが一食分の摂取エネルギーが減少した。また、高脂肪食を摂取させたマウスの腸管はスクロースの感知能力が低下していた。

【考察】 腸管で合成される満足感誘導因子である OEA は肥満の腸管では合成が低く、摂食に連動しないことが明らかとなった。高脂肪食と高スクロース食の短期投与でも腸管の OEA の合成が低下し、栄養素の感知能力が変化することがわかった。以上の結果は、高脂肪食や高スクロース食による腸管の生理機能の変化が摂食行動の異変をきたし、それに伴って肥満が誘導される可能性を示唆する。

P-13

グリーンナッツオイル摂取がSAMP8マウスの
認知機能に及ぼす影響

¹⁾昭和女子大・生活機構、²⁾昭和女子大・生活科学、

³⁾昭和女子大・女性健康科学研

○竹山 恵美子 ^{1) 2) 3)}、高木 千華 ²⁾、今井 彩瑛 ²⁾、岩村 美菜子 ²⁾、
林 佳那子 ²⁾、渡辺 睦行 ^{1) 2) 3)}、福島 正子 ^{1) 2) 3)}

【目的】最近、生体内に分布する α -トコフェロール(以下 toc)に一定量の γ -toc が加わると、アレルギー性疾患やアルツハイマー病などの炎症性疾患を抑制する可能性があるとの報告がみられる。一方、DHAやEPAには、種々の炎症や、認知能の悪化等に対する抑制効果が認められている。またDHAやEPAは生体内で α -リノレン酸からも合成される。そこで α -リノレン酸と γ -toc を多く含むグリーンナッツオイル(GNO)の認知能低下抑制効果を調べた。実験には老化促進モデル(SAM)マウスを用い、Y字迷路試験を行った。

【方法】実験には学習・記憶障害という形質を持つSAMP8(P群)と、対照動物のSAMR1(R群)の4週齢雄マウス、およびICRを用いた。1週間の予備飼育後、それぞれのマウスをGNO(GNO群)・カノーラオイル(CAO群)・コーンオイル投与群(CO群)に分け、AIN-93G(大豆油抜き)に各オイルを7%添加した飼料を与え、82日間飼育した。また、本飼育開始時と解剖前にY字迷路試験を行った。屠殺したマウスの脳、肝臓、筋肉、白色脂肪からトコフェロールを抽出後HPLCで分析した。また、同様に脳と肝臓から脂肪酸を抽出し、ガスクロマトグラフにより分析した。

【結果】マウスの脳、肝臓、筋肉、白色脂肪のいずれにおいても、 α -toc 含量が多かったが、肝臓や脳では α および γ -toc とも対照のR群に比べ、P群で低値を示した。また、GNO摂取群は、CAOまたはCOを摂取群より、臓器1g中の γ -toc 量が多かった。また、GNO摂取群の脳と肝臓におけるDHA量は、CO群よりも高値であり、アラキドン酸量はCO群の方が高い値を示した。Y字迷路試験における交替行動率は、GNO群ではP、R群ともに本飼育開始時より解剖前の方がわずかに高い値を示した。これに対して、CO群の交替行動率は、R群では本飼育開始時と解剖前とではほぼ変化がなく、P群は解剖前の方が低値を示し、CAO群においては、R群は解剖前で低値を示し、P群においてはCO群よりさらに低い値を示した。P群のGNO群における増加率とCO群、CAO群間の減少率には有意な差が認められた。以上のことから、GNOは有用な n-3 系脂肪酸の供給源であり、生体内の γ -toc 濃度を高く保つのに有効であることが認められた。また、認知症予防の観点から、有効性が期待できるものと考えられる。

P-14

食用植物油摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラットの
血圧変動に与える影響

¹⁾北里大・医療衛生、²⁾金城学院大・薬
○内藤 由紀子¹⁾、大原 直樹²⁾

【目的】 これまでの研究において、唯一の脂肪源としてカノーラ油を摂取させた脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)では、生存日数が短縮することを確認した。また同動物では、血管機能障害、心臓および腎臓傷害も観察されたことから、生存日数短縮の背景には高血圧関連病態の促進があることが示唆された。そこで本研究では、カノーラ油摂取による高血圧促進のメカニズムを解明するため、ラットの血圧が影響を受ける時間帯に差があるか否かについて調べた。テレメトリーシステムによる連続血圧測定は、tail-cuff 法による非観血式血圧測定と比較して測定時のストレスが小さいことが利点の一つである。また並行して、血圧調節に関連するカテコラミンの遺伝子発現の変化についても検討した。

【方法】 雄性 SHRSP を用いた。1)収縮期血圧測定:インフルラン麻酔下で、腹大動脈にカニューレーションしたテレメトリーシステムの送信器を埋植し、10日間予備観察した。動物を2群に分け、カノーラ油群および大豆油群(対照群)とした。それぞれ、10 w/w%カノーラ油または大豆油を含有する無脂肪精製粉末飼料を8週間自由摂取させ、期間中連続して収縮期血圧を測定した。2)遺伝子発現:動物を2群に分け、カノーラ油群および大豆油群とした。さらに各群を4群に分け、2、4、8、16週間摂取群とした。各摂取期間終了後、麻酔下で副腎を摘出し、RNAを抽出・精製してカテコラミン代謝関連遺伝子(TH、DBH および COMT)発現を調べた。

【結果】 連続血圧測定において、暗期の収縮期血圧には群間差が認められなかったが、明期の血圧は、摂取第40日以降、大豆油群と比較してカノーラ油群で高値を示した。TH および DBH mRNA 発現は、2、4 および 8 週間摂取において群間差が認められなかったが、16 週間摂取においてはカノーラ油群の両遺伝子発現が低かった。一方 COMT mRNA 発現は、2 週間摂取においてのみ、大豆油群と比較してカノーラ油群で高かった。

【考察・結論】 SHRSP にカノーラ油を自由摂取させると、暗期の収縮期血圧は8週間の摂取期間中影響を受けないが、明期の収縮期血圧は、摂取第40日以降高値を示すことが明らかとなった。また、カテコラミン分解および合成に関わる遺伝子発現の変化が認められたことから、これらがカノーラ油摂取による血圧上昇に影響を与える可能性が示唆された。

P-15

完全水添油脂を摂取した SHRSP の糞便中脂質含量

¹⁾岐阜薬大、²⁾金城大・薬
永田 翔子¹⁾、○立松 憲次郎¹⁾、大原 直樹²⁾

【目的】 菜種油 (Can) を脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) に摂取させると、その寿命が著しく短縮されるが、完全水添処理を施した菜種油 (FHCO) を摂取させると、血圧減少や腎障害の抑制が観察され、脳卒中による致死個体が認められない。この病態改善作用のメカニズムを解明するために、SHRSP に FHCO を摂取させて、糞便中に含まれる脂質成分を分析した。

【方法】 雄性 SHRSP、4 週齢を 18 匹用意し、これを 3 群に分けた。Can、FHCO、コントロールとなる大豆油を重量比 10% で普通飼料 CE-2 に混合したものを実験飼料として、各群に 1 種類ずつ与えた。11 週齢まで飼育を行い、実験期間中は常時、体重、摂食量と共に糞便を採取した。得られた糞便は定法に従い脂質成分を抽出し、ガスクロマトグラフィーにより各種成分を定量した。

【結果】 実験期間中、FHCO 群では摂食量の有意な上昇と、わずかな体重減少が観察された。得られた糞便の形状は 3 群間で目立った違いは認められなかったが、1 日あたりの糞便量は FHCO が他の群のよりも多かった。糞便中の脂肪酸含量はどの週齢においても FHCO が 12.1~27.0 倍と多かったが、脂肪酸組成は 18:0 含量が多かったほかは、有意な変化は認められなかった。糞便中のステロール含量も測定したが、植物ステロールも含めて有意な差は認められなかった。

【考察】 FHCO による SHRSP 病態改善作用には、組織植物ステロール蓄積量の減少や、ドコサヘキサエン酸 (DHA) 含量の上昇が関与する可能性を以前の大会で報告している。そのため、今回の結果では糞便中のこれらの排泄量に影響が出ていると推測された。植物ステロールに関しては特異的な排出促進ではなく、排出される糞便量の増加に伴い、植物ステロールの排泄量が増えたと考えられた。しかし、DHA 含量については排泄量減少からは説明できず、別の原因を追究する必要がある。一方、総脂肪酸量が FHCO で多かったことは、SHRSP が吸収したカロリー量を減少させたと考えられることから、病態改善作用に摂取カロリー減少が寄与している可能性がある。

【結論】 FHCO を摂取した SHRSP では、糞便量、糞便中の脂質排泄量が有意に上昇し、これが植物ステロール蓄積を抑制すると考えられた。

P-16

国産ザクロ種子に含まれる脂肪酸組成に関する解析

¹⁾日本大学大学院生物資源科学研究科
○佐藤 沢子¹⁾、成澤 直規¹⁾、竹永 章生¹⁾

【目的】 ザクロ(*Punica granatum*)は世界で食され、国内需要も高まっている。ザクロの果汁には多くのポリフェノールが含まれており、抗酸化性が高いことが報告されている。また、ザクロ種子油は共役脂肪酸であるプニカ酸とよばれる特有の脂肪酸を含んでいる。プニカ酸には抗がん作用、腫瘍血管新生抑制作用、抗肥満作用等があると近年明らかとなっているが、成熟過程における含有量の変化など詳細は明らかとなっていない。本研究では、国内で栽培されているザクロを対象として、種子に含まれる脂肪酸組成を分析し、プニカ酸の成熟過程における動態の調査を行こととした。

【方法】 供試したザクロ樹は、山梨県笛吹市の2種について調査し、2015年8月より3ヶ月間、成熟過程毎に継続的にサンプリングした。果皮・果汁を取り除き種子を取得し、乾燥後に細かく砕き、Folch法により総脂質を抽出した。さらに、得られた総脂質をメチルエステル化(三フッ化ホウ素メタノール法)を行い、ガスクロマトグラフィー(アジレントテクノロジー製 GC system 7890A)により脂肪酸組成を求めた。

【結果】 サンプリングの場所や時期に関わらず、いずれの種子中にはプニカ酸が最も多く、次いでリノール酸、オレイン酸、パルミチン酸、ステアリン酸の順であった。一方、成熟過程別にプニカ酸を比較した結果、未熟期では総脂肪酸の約40%であったのに対し、完熟期の試料では約60%に増加した。これに関連して、パルミチン酸とリノール酸の割合が低下した。

【考察】 これまでに生産量・流通量共に高い品種であるワンダフル種において、種子中の総脂肪酸のうちプニカ酸は80%程度含有することが報告されている。本研究で用いた試料では、それよりも低い値であった。この違いが品種による影響であるものと考え、現在品種の特定をDNAレベルで解析を行っている。一方、本研究によりザクロの成熟毎に脂肪酸組成を解析した結果、プニカ酸量とリノール酸やパルミチン酸量に関連性が認められた。このことから、リノール酸とパルミチン酸がプニカ酸の前駆体として働くものと推察された。

【総論】 国内において観賞用として栽培されているザクロ種子の脂肪酸を解析した結果、成熟状態に関わらずプニカ酸が優占的に存在していることが明らかとなった。また、プニカ酸は未熟期から完熟期にかけて含有量の増加が確認された。

P-17

市販されている魚卵の脂肪酸組成とその特徴について

¹⁾麻布大学 生命・環境科学部

原馬 明子¹⁾、勝間田 祥帆¹⁾、手代木 栞¹⁾、守口 徹¹⁾

【緒言】 必須脂肪酸で青魚などの魚介類に含まれる n-3 系脂肪酸の EPA には、アレルギーを抑制する効果や血液中の中性脂肪の上昇を抑制し、動脈硬化や心疾患を予防する作用があることが知られている。また、DHA は脳や網膜に多く存在し、脳機能を健全に保ち、認知症やうつ病の予防、集中力の低下防止の作用があると報告されている。しかし、最近のわが国の魚介類の 1 日当たりの摂取量は、平成 13 年以降減少し続けている。これらの原因として水産庁は、肉類よりも魚介類の方が割高であること、現代の調理時間の短縮や子供の魚嫌いなどを挙げている。そこで、本研究では調理をしなくても簡単に食材として利用できる魚卵に注目し、脂肪酸分析をして、n-3 系脂肪酸をより効率よく摂取できる魚卵の種類を検討した。

【実験方法】 7 種類の魚卵（いくら、すじこ、かずのこ、たらこ、かれい、とびこ、ししゃも）を用いて、調理前(生)と“焼く”もしくは“煮る”の 2 種の方法で加熱調理後の たらこ、かれい、ししゃもの 3 種類の脂肪酸組成を、ガスクロマトグラフを用いて分析した。その後、総脂肪酸量、n-3 系脂肪酸量、n-6 系脂肪酸量、n-6/n-3 比を算出した。

【結果】 各魚卵における EPA、DHA を含む n-3 系脂肪酸含量は、すじこ、ししゃも、いくら、たらこ、かれい、かずのこ、とびこ の順に高濃度であった。加熱調理をした たらこ、かれい、ししゃも の脂肪酸組成に変化はなかったが、調理前と比較すると単位グラムあたりの各脂肪酸量が増加していた。

【考察】 魚卵は、種類によって調理をしなくても簡単に EPA や DHA を摂取することができることが分かった。また、今回、最も多く n-3 系脂肪酸が含まれていたのは「すじこ」であった。「たらこ」や「とびこ」は、他の魚卵に比べて、総 n-3 系脂肪酸が少ないことから n-3 系脂肪酸食材としては期待が低く、少量で多くの n-3 系脂肪酸が摂取できる「すじこ」や「いくら」が推奨できた。調理した 3 種類の魚卵においては、単位グラムあたりの脂肪酸量が相対的に増えていることがわかり、調理して食べた方が n-3 系脂肪酸を効率良く摂ることができると考えられた。これらの結果を基に、欧米化している日本人の食生活のなかで、n-3 系脂肪酸の摂取方法として魚卵を工夫・活用できるものと期待している。

P-18

超臨界二酸化炭素抽出および LC-MS による農水産物の カロテノイド定量の検討

¹⁾岩手環境保健研究センター、²⁾(現所属 花巻保健福祉環境センター)
○及川 和志 ^{1) 2)}

【目的】 機能性表示への期待などを背景に、迅速性に優れたカロテノイド定量法の確立が望まれる。これまでに、雑穀のルテインを対象として超臨界二酸化炭素抽出法の適用を検討しているが、その定量には質量分析計(MS)の使用が適切と考えられる。そこで、雑穀や海藻のカロテノイド定量に必要となる前処理法の検討、および、LC-MS 分析パラメータの最適化と定量の妥当性を検討したので報告する。

【方法】 (1) 標準溶液および LC-MS:ルテインほかの市販標準品をアセトンに溶解後、既報のモル分子吸光係数により濃度を補正し、これを LC 溶媒に転溶して用いた。LC-MS 分析は、Agilent-1100 型 LC にタンデム型質量分析計(ABSciex, API4000)が接続されたシステムを用いた。(2) LC-MS パラメータの検討:分離カラムに C30 を使用し、光学スペクトルの取得に影響せずに MS のイオン化を両立できる溶媒を検討。対象とするカロテノイド成分に帰属可能なターゲットイオンを選択。(3) 定量の検討:雑穀と海藻から超臨界二酸化炭素抽出で得た試料の固相ミニカラムによる精製を検討。次いで、大気圧下化学イオン化法イオン源でシングル MS (Q3-SIM)、タンデム MS (MRM) モードの成分定量について検討。

【結果】 (1) カロテノイド分析に適する LC-MS パラメータ:LC-MS の溶離液は、溶離液へのイオン化促進剤の添加は行わず、MeCN、MeOH、Isopropanol、Water による混液を基本組成とした。LC-MS 分析では、定量イオン(m/z)としてルテイン 551.5、ゼアキサンチン 569.5、フコキサンチン 659.6 を選択した。(2)固相抽出による精製及び LC-MS による定量:抽出液には、LC カラムに不可逆的に吸着する色素成分が含まれるが、C18 固相ミニカラムによる精製はルテインやフコキサンチンの回収率を落とさず、適用が可能である。LC-MS での定量値は、光学検出器を用いた場合と同等であり、妥当性を確認できた。

【考察】 カロテノイドの成分分析において、LC-MS による質量分析法は、一般的な光学的分析法による定性データを補完し、定量の信頼度を高める上でも有効な手法であると考えられる。

P-19

山菜の脂溶性成分による転写因子抑制作用に基づいた メラニン色素抑制作用

¹⁾秋田大・教育文化・生活科学

菅原 美帆¹⁾、○川村 美穂¹⁾、岩見 舞花¹⁾、大島 かおり¹⁾、池本 敦¹⁾

【目的】 秋田の地域食資源の中からメラニン色素産生を抑制し美白に有効な素材を探索したところ、山菜の一種であるホンナ(一般名:ヨブスマソウ/イヌドウナ)の脂溶性抽出物が有効なことを見出した。本研究では、有効成分を単離・精製し、その作用メカニズムを解析したので報告する。

【方法】 ホンナから70%EtOH で有効成分を抽出し、逆相カラム HP-20 を用いて分画した。活性本体を含んだ画分をシリカゲルカラムで精製した後、ODS カラムを装着した HPLC で単離・精製した。精製標品の化学構造は LC-MS で解析した。生理作用はマウス由来メラノーマ細胞株 B16 4A5 を用い、IBMX 刺激によるメラニン産生に及ぼす影響を評価した。転写因子の発現は、Real-time PCR 法で解析した。

【結果】 ホンナに含有されるメラニン色素抑制作用を持つ脂溶性成分は、エレモフィラン型セスキテルペン類の一種であるペタシン及びその異性体と同定された。これらはセイヨウフキの成分として報告され、偏頭痛やアレルギーを抑制する作用が知られていた。その作用メカニズムとして、Ca チャンネルやロイコトリエン生合成酵素の抑制が示されているが、その数十分の一の低濃度でメラニン色素産生を抑制することを新たに見出した。メラニン色素の産生は、チロシナーゼによる酵素反応と酸化重合反応が関与するが、ペタシンはこれらの過程には影響を及ぼさなかった。一方で、色素細胞特異的転写因子である MITF の発現を強く抑制することで、チロシナーゼ mRNA の発現を顕著に低下させていることが分かった。

【考察・結論】 ペタシンおよびその異性体は IBMX 刺激による MITF 活性化経路である cAMP 産生や CREB のリン酸化は抑制しなかったことから、転写因子を直接抑制している可能性が示唆された。このような山菜に含有される脂溶性成分による転写因子の制御は、メラニン色素産生だけでなく、その他の様々な生理現象に関与している可能性があり、多様な薬理効果発現の機構解明にはさらなる研究が必要である。また、食品中に微量に含まれる脂溶性成分の生理作用の評価についても、再検討が必要である。今後、山菜の有効活用の観点から、その機能性をさらに追及していく計画である。

P-20

乳酸菌発酵食品・白神ささらの脂溶性抽出物による アンジオテンシン変換酵素阻害作用

¹⁾秋田大・教育文化・生活科学

神戸 真緒¹⁾、○山木 映穂¹⁾、三澤 りえ¹⁾、大森 祐衣¹⁾、池本 敦¹⁾

【目的】 地域に存在する生物資源の有効活用を目指して、世界遺産・白神山地で採取した腐葉土から有用な機能を持つ微生物が探索された。その中から強い抗菌作用を有する乳酸菌が見出され、「作々楽(ささら)」と命名された。あきたこまち米を発酵させて作製した米麴を素材として、この乳酸菌を用いてさらに発酵させたものが乳酸菌発酵食品「白神ささら」である。調味料として利用される塩麴から塩分を除いたものに等しく、高塩濃度付加の代わりに乳酸菌発酵を行うことで腐敗を防いでいる。そのため、低塩分の調味料として様々な食品に利用可能であり、水分を調整すれば甘酒としても飲用できる。本研究では、この新規食品の付加価値を高めるために、成分を分析し、機能性を探索したので報告する。

【方法及び結果】 成分を分析した結果、ほぼ同様の原料から製造される塩麴と比較して、白神ささらは GABA 含量が 10 倍以上高かった。また、脂質成分では、白神ささらはリノール酸含量が低く、塩麴では検出されなかったアドレン酸が検出されるなど、異なった脂肪酸組成の特徴を示した。機能性を探索した結果、アンジオテンシン変換酵素(ACE)抑制作用が塩麴よりも高いことが分かった。白神ささらから ACE 阻害成分を 70%EtOH で抽出し、限外ろ過膜である Amicon による遠心分離を行った。分子量 3000 以下の下層を分離し、ODS カラムを装着した HPLC で ACE 阻害物質を単離・精製した。ACE 阻害作用を有する脂溶性成分として、少なくとも 3 種類の物質が含まれていることが分かった。

【考察・結論】 塩麴と比較して、白神ささらは食塩が添加されておらず、GABA 含量が顕著に高い。さらに白神ささらは ACE 阻害物質を含有することから、高血圧予防食品として有用であることが示された。これらの成分は、乳酸菌発酵により生成したと考えられ、発酵食品の機能性成分の観点からも興味深い。乳酸菌発酵により脂肪酸組成も変化しており、脂質栄養の観点からも、こうした手法による脂肪酸組成の質的改変も検討すべきである。今後、これらの機能性を生かした白神ささらの商品開発を進めていくべきだと考えられる。