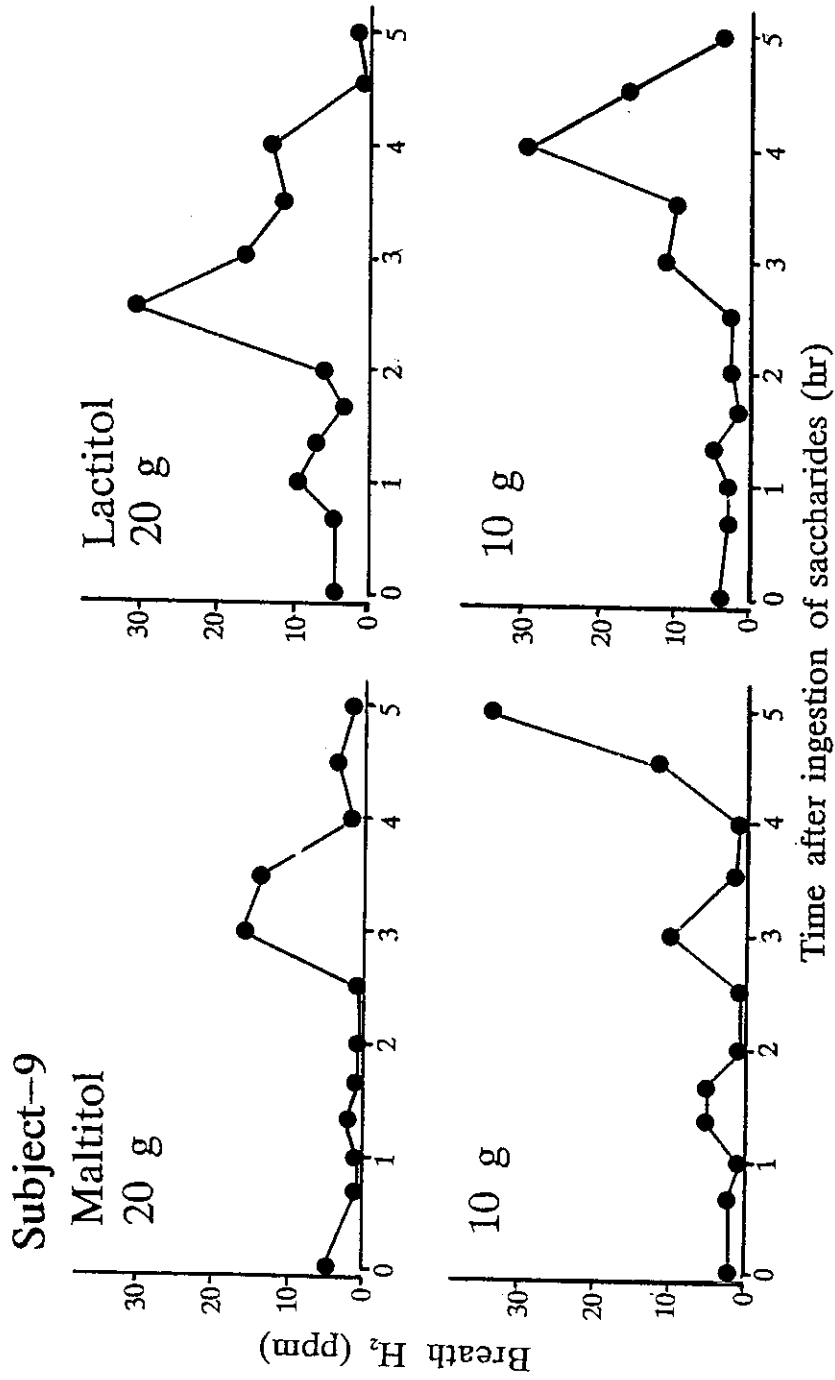


**Fig. 4 Dose Dependency of Breath Hydrogen Excretion  
by Ingestion of Saccharides**



**Fig. 5** Dose Dependency of Breath Hydrogen Excretion by Ingestion of Saccharides

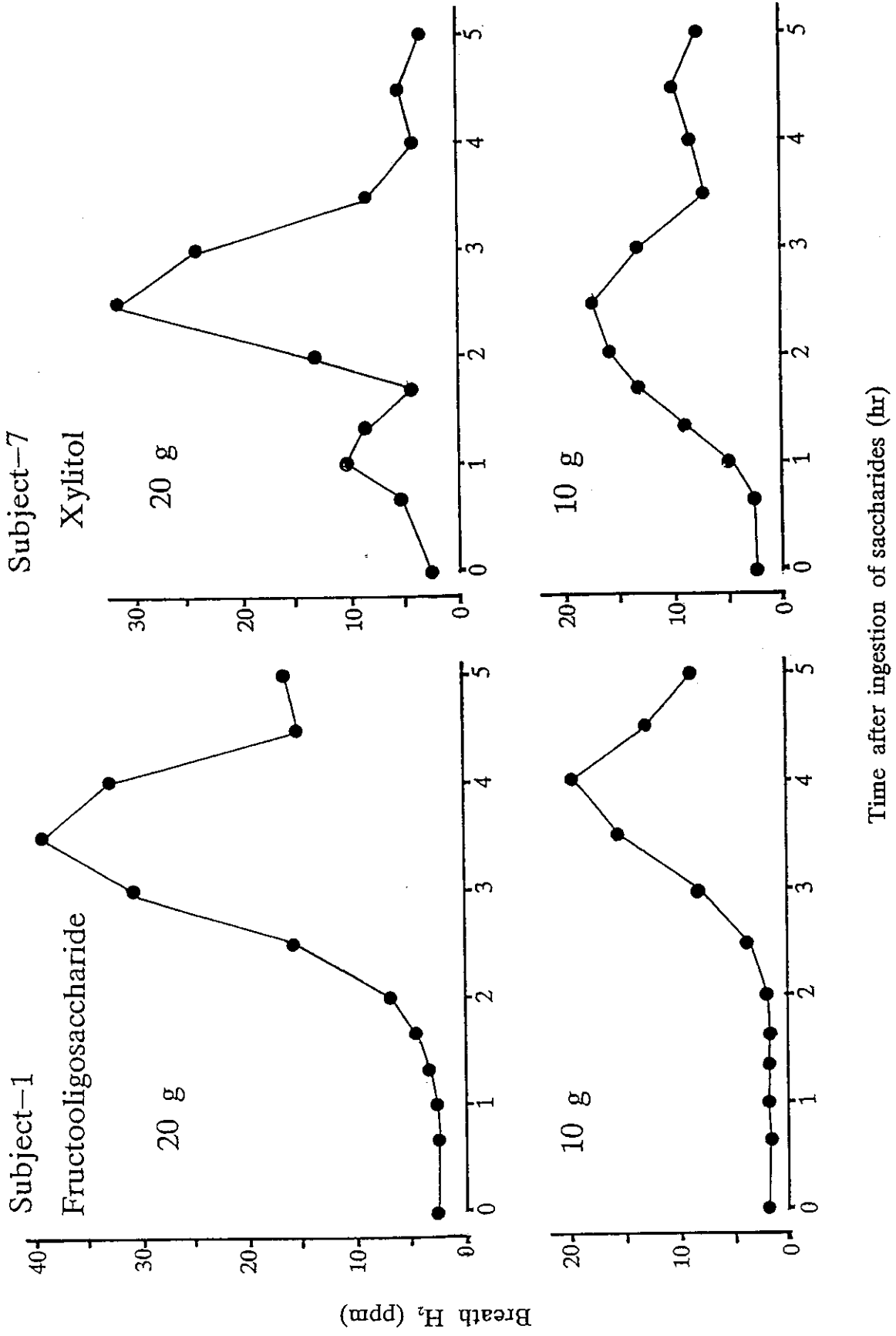
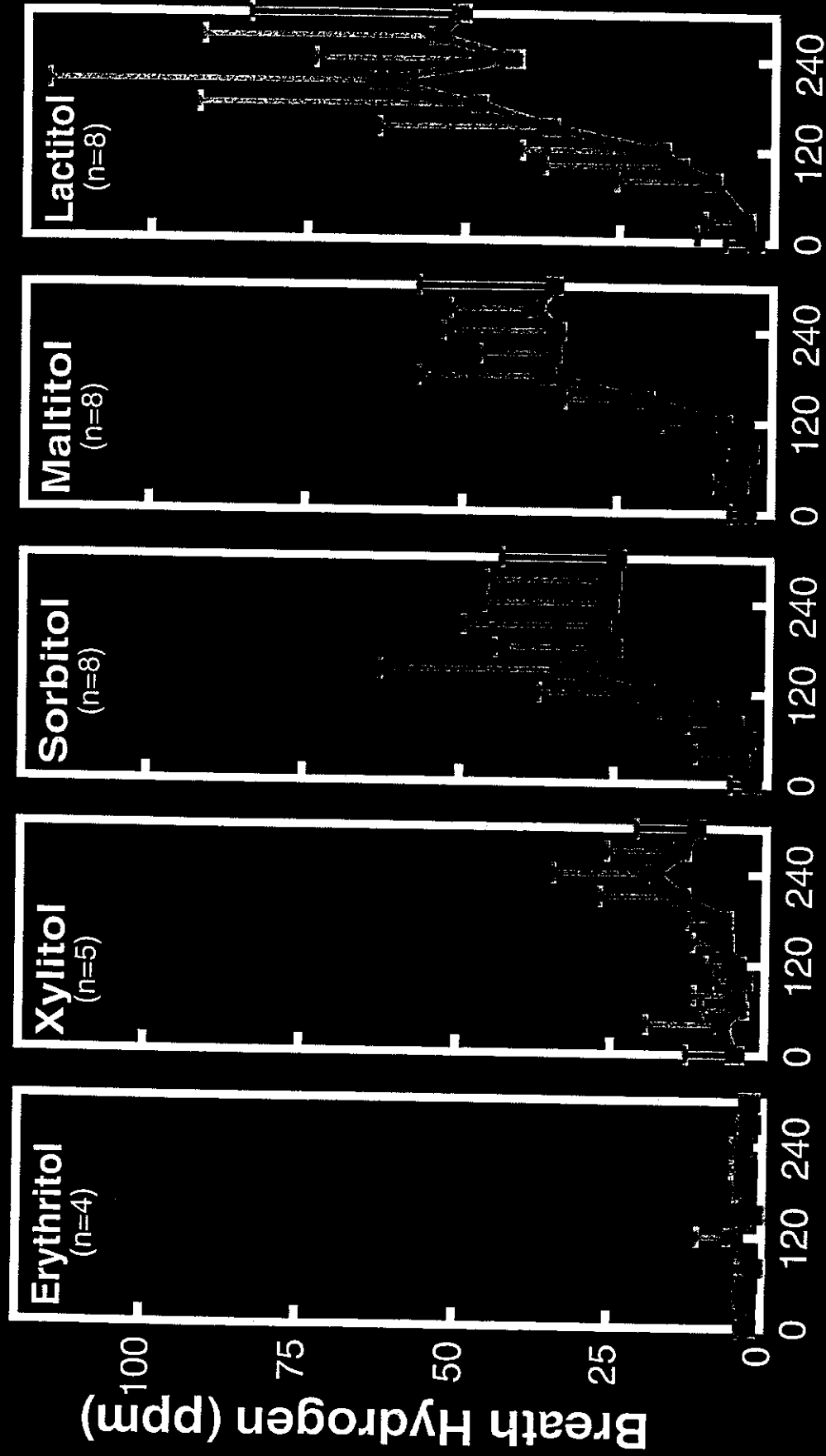


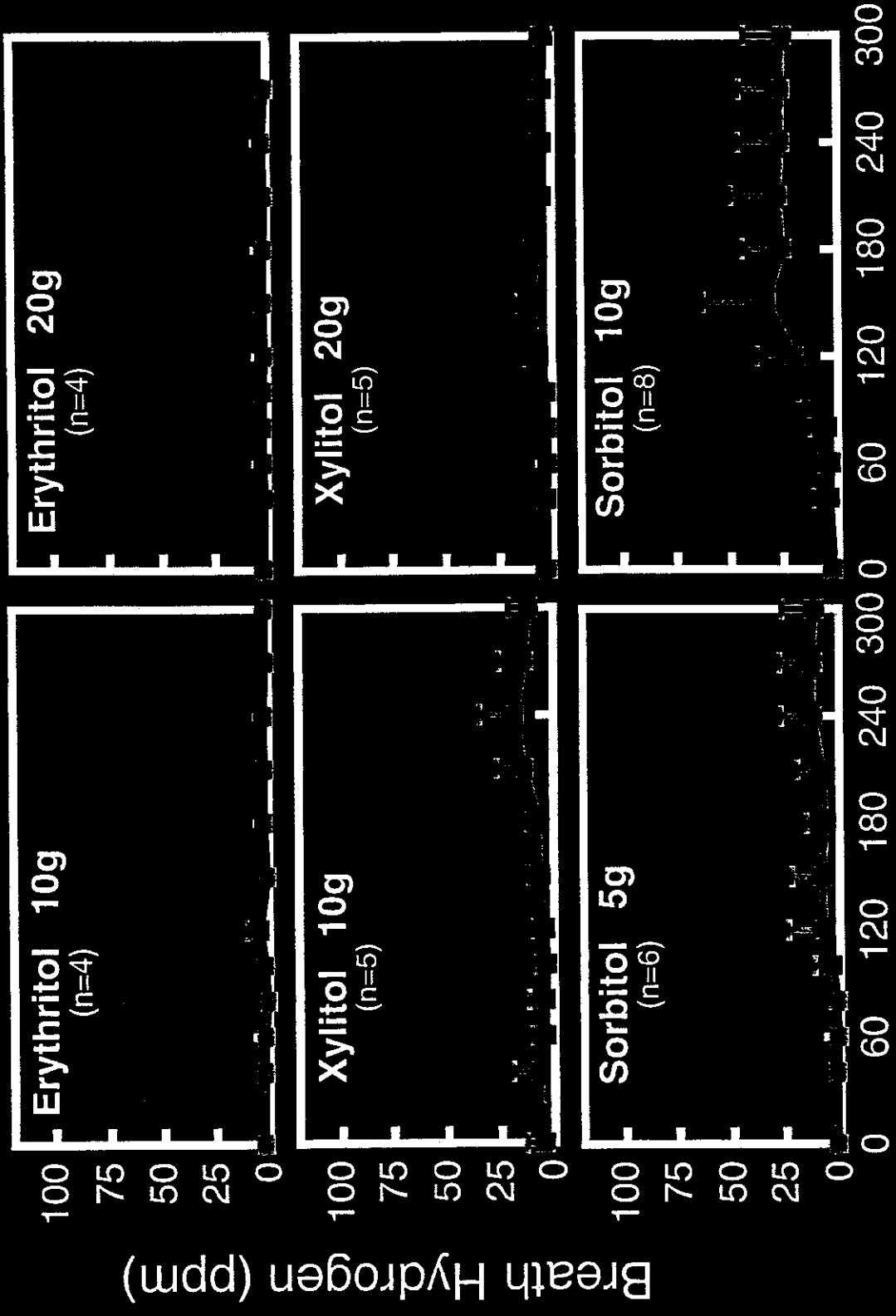
Fig.6 Breath Hydrogen Excretion after Ingestion of Mono- and Di- saccharide Alcohols in Normal Female Subjects



Periods after ingestion of test substances (min)

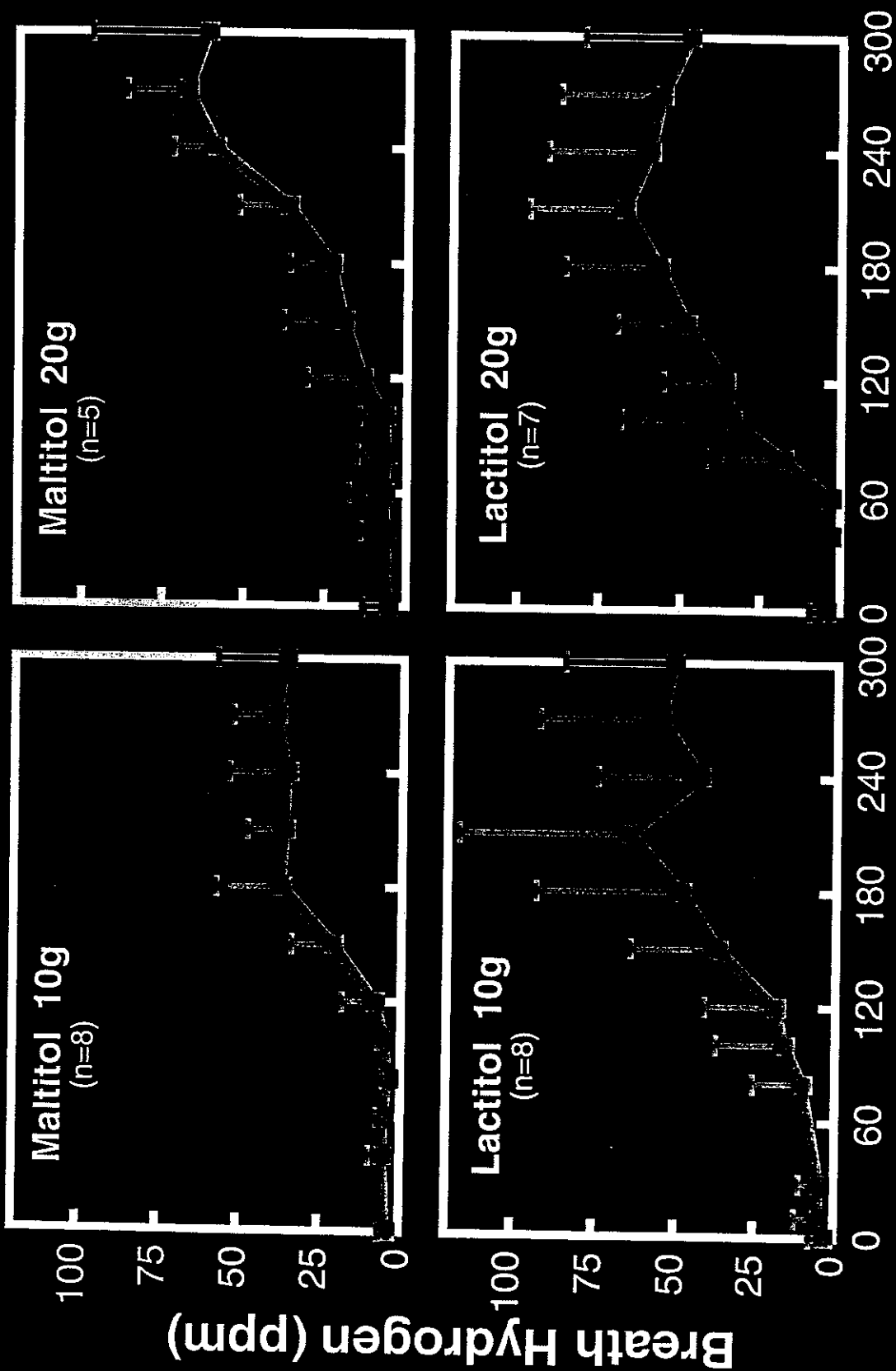
\* Dosage of each test substance ; 10g

Fig.7 Effect of Response of Mono-saccharide Alcohols on Breath Hydrogen Excretion in Normal Female Subjects



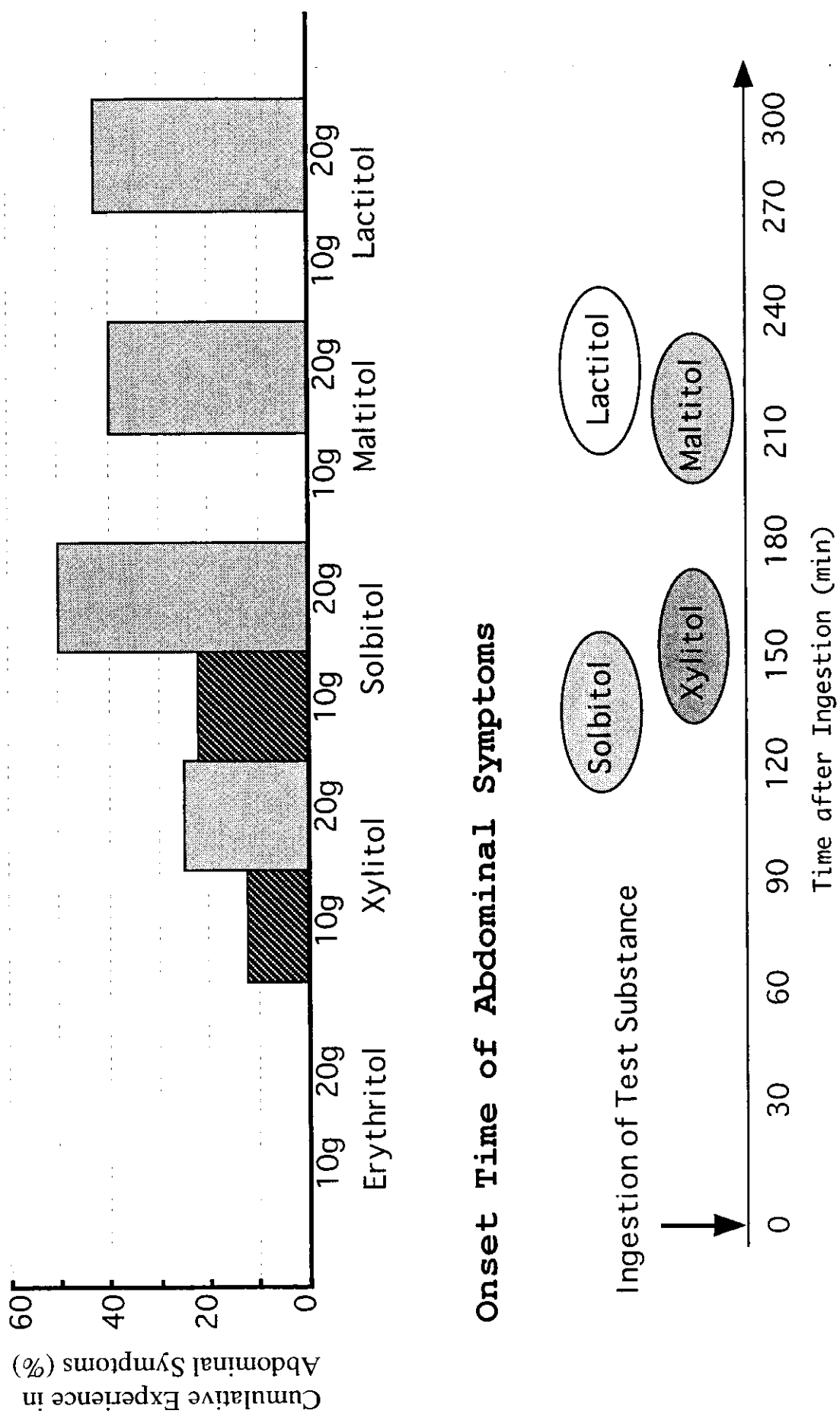
periods after ingestion of test substances (min)

**Fig.8 Effect of Response of Di-saccharides Alcohols on Breath Hydrogen Excretion In Normal Female Subjects**



**periods after ingestion of test substances (min)**

**Fig. 9 Comparison with Experience of Abdominal Symptoms Induced by Different Dosage of Several Sugar Alcohols**



## 分担研究報告書

### 各種脂肪酸の適正な摂取レベルの検討

分担研究者 齋藤衛郎 国立健康・栄養研究所食品科学部長

研究要旨：N-3系脂肪酸による脂質代謝の改善作用を有効に引き出し、しかも有害な過酸化脂質・フリーラジカルの生成を亢進させないドコサヘキサエン酸 (22:6n-3, DHA) の適正な摂取レベルについて若齢ラットおよび1年齢の成熟ラットをモデル動物として用い検討した。

飼料脂質 (10wt %) 中のDHAのレベルを変化させ、飼料に対してエネルギー%で若齢ラットでは0、1.0、3.4、8.7%、成熟ラットでは0、1.0、3.1、8.4%となるように段階的に変化させた飼料 (VEはいずれも20IU/100g dietで一定) を若齢では2週間、1年齢の成熟ラットでは30日間それぞれ投与後、血清脂質レベルの変化および血清と組織 (肝臓、腎臓) における過酸化脂質の生成とVEレベルの変化について検討した。

血清のVEレベルは、若齢ラットでは1.0%で有意に低下し、成熟ラットでは3.1%で有意に低下した。肝臓の過酸化脂質は、若齢ラットでは3.4%以上で、成熟ラットでは8.4%で有意に低下した。肝臓のVEレベルは、過酸化脂質の増加に対応して減少した。腎臓では、過酸化脂質は若齢ラットでは1.0%以上で有意に増加したが、成熟ラットでは有意な増加は観察されなかった。一方、血清脂質レベルは、若齢ラットでは1.0%以上で総コレステロール濃度が有意に減少し、成熟ラットでは3.1%以上で総コレステロールとリン脂質濃度の有意な減少が認められた。

以上の結果より、DHAの摂取は、若齢ラットでは、エネルギー%で1%、成熟ラットでは、3%を上限とする摂取が有効性と安全性の両面から摂取レベルの一つの目安になると考えられる。

#### A. 研究目的

飽和脂肪の摂取が心臓病の発症を高めるのに対して、高度不飽和脂肪酸に富む魚油の摂取は、動脈硬化を抑制し、心臓病を始めとした循環器疾患の発症を抑える事は良く知られている。この作用は、魚油に豊富に含まれているn-3系脂肪酸のエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) の作用によるものであり、主として血小板凝集の抑制や血清脂質の改善作用を介していると考えられている (1-4)。近年では、目の網膜や脳神経機能の正常な発達と維持にDHAが必須の成分であることも明らかとなっている (5)。しかし反面、これらn-3系の脂肪酸は不飽和度が高いために酸化安定性が非常に悪

く、そのため、生体膜脂質に取り込まれた場合、脂質過酸化反応に対する組織の感受性を高め、抗酸化剤としてのVEの要求量を増やすことになる (6-14)。過酸化脂質・フリーラジカルが一旦生成されると、それがスカベンジャー系により処理されない限り非特異的に生体に対して有害な影響を及ぼす。特に、生体の抗酸化防御系の活性が低下している場合には、過酸化脂質・フリーラジカルが蓄積し、循環器疾患を始めとした生活習慣病の誘因、憎悪因子となることが危惧される。そこで、n-3系の脂肪酸の生理的な有効性が見られる場合であっても、過酸化脂質・フリーラジカルの生成が高レベルで持続されることがあっては生体にとって好ましくない。従って、n-3系の脂肪酸の摂取

をより有効なものとするためには、有効性と安全性の両面からのアプローチが必須となる。本報告では、そうした視点に基づいてDHAの摂取による影響のうち、過酸化脂質・フリーラジカルの生成と脂質代謝の改善効果に対する影響を、モデル動物として若齢および成熟ラットを用いて検討した。

## B. 研究方法

### 実験1

実験には、4週齢のSD系雄ラットを使用した。試験飼料はAIN-76組成に準じて調製したが (Table 1)、脂質レベルは重量%で10% (エネルギー%では21.6%) とした。オリーブ油、サフラワー油、純度83%のDHAエチルエステルを混合して、飼料中のDHAのレベルがエネルギー%で0、1.0、3.4、8.7%になるようにするとともに、VEのレベルが飼料100g中で20IU (RRR- $\alpha$ -トコフェロール当量として13.4mg; AIN-76の通常レベルは5IUである) となるように調製した。飼料脂質の脂肪酸組成では (Table 1)、対照群はリノール酸を41%含み、このレベルは、DHAを最大レベルで投与した8.7%群のDHAレベルの40%とほぼ同等にした。DHA群は、n-6系の必須脂肪酸としてリノール酸も2エネルギー%含んでいる。本飼料を自由摂取として2週間飼育した。なお、飼育中は、飼料中のDHAの酸化を出来るだけ抑えるために、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存しておいたDHAエチルエステルを飼料投与直前に飼料に混合するとともに、夕方飼料を与え翌朝取り除く方法を取った。飼育終了後、心臓採血により血液を採取し、組織を取り出して分析に供した。分析項目は、血清および肝臓と腎臓の過酸

化脂質量 (共役ジエン量、ケミルミネッセンス強度、TBA値とリポフシン量) (8、15-20)、そのスカベンジャー成分としてのVE ( $\alpha$ -トコフェロール) 量 (21) および血清の脂質レベル (市販測定キット) である。

### 実験2

実験には、1年齢のSD系雄ラットを使用した。実験方法は基本的には、実験1と同様であるが、飼料中のDHAのレベルはエネルギー%で0、1.0、3.1、8.4%になるようにした。本飼料を自由摂取として30日間飼育した。

## C. 研究結果および考察

### 実験1：若齢ラットを用いた実験

Fig. 1-3に血清、肝臓、腎臓における過酸化脂質レベルの変化をそれぞれ示す。血清のTBA値は、DHAの投与レベルの増加に伴い直線的に増加し、DHAの最大レベルの投与で有意に増加していた。水溶性の蛍光物質レベルは、対照群に対して有意な変化は観察されず、TBA値の増加にも係わらず、蛍光物質が生成するほどには脂質過酸化反応は亢進していないと思われた。データは示していないが、組織実質細胞傷害の指標となる血清のAST (GOT) とALT (GPT) がいずれのDHAレベルでも増加していないこともこうした考えを支持するものと思われる。血清のVE濃度は、DHAの投与レベルの増加に伴い著しい減少が見られ、既に1.0%で有意に減少していた。こうした減少が持続されることは安全性の点からは好ましいことではない。従って、血清のデータからは、1%がカットオフポイントになる。肝臓のケミルミネッセンス強度とTBA値は、DHAの3.4%以上で増加していたが、ミクロ



ソームのリポフシンレベルには有意な変化が認められなかった (Fig. 2)。肝臓のVE量も血清と同様にDHAの投与レベルの増加とともに減少していたが、有意差は、DHAの3.4%以上にのみ認められた。肝臓のデータからは、3.4%が安全性の点からのカットオフポイントになる。

腎臓のTBA値は、既に1.0%で有意に増加していたが、VEのレベルはDHA最大投与群でのみ有意な減少が見られた (Fig. 3)。VEのレベルは、血清や肝臓ほどには著しい低下ではなかった。ケミルミネッセンス強度は変動が大きく、DHAの最大投与群で増加傾向にはあるものの有意ではなかった。腎臓のデータからは、1%にカットオフポイントがあった。

若齢ラットでの血清及び組織の過酸化脂質生成と抗酸化剤のVEレベルの変化から、1エネルギー%以上のDHAの摂取は、脂質過酸化反応に対する感受性を高めると共にVEの要求量を増加させた。このことは、DHAの摂取が抗酸化防御系の防御能を凌いだことを示唆している。しかし、この時にはまだ組織実質細胞の傷害は起きておらず、悪影響非観察最高摂取量 (NOAEL) は1エネルギー%よりもさらに多い摂取レベルにあると推測される (22)。

一方、血清脂質の変化を見ると (Fig. 4)、いずれの脂質もDHAの投与レベルの増加とともに減少し、総コレステロール濃度は、DHAの1.0エネルギー%でも有意に減少していた。リン脂質濃度とHDL-コレステロール濃度は3.4%以上で有意に減少していたが、TG濃度は有意な変化とはならなかった。HDL-コレステロールと総コレステロール濃度の比を取ると、ほとんど変化は見られなかった。

## 実験2：成熟ラットを用いた実験

Fig. 5-7に血清、肝臓、腎臓における過酸化脂質レベルの変化をそれぞれ示す。血清のTBA値は、DHAの投与レベルの増加に伴い直線的に増加し、DHAの最大レベルの投与で有意に増加していた (Fig. 5)。水溶性の蛍光物質レベルには有意な変化は観察されず、TBA値の増加にも係わらず、蛍光物質が生成する程には、脂質過酸化反応は亢進していないと思われる。若齢ラットと同様に、組織実質細胞傷害の指標となる血清のAST (GOT) とALT (GPT) がいずれのDHAレベルでも増加していない (データは示していない) こともこうした考えを支持すると思われる。血清のVE濃度は、DHAの投与レベルの増加に伴い直線的に著しい減少が見られ、3.1%以上で有意に減少していた。安全性の点からはこうした減少が持続されることは好ましいことではない。従って、血清のデータからは、3.1%がカットオフポイントになる。

肝臓ミクロソームの共役ジエン量の変化を見ると、DHAの投与レベルの増加とともに増加し、3.1%以上で有意な増加が観察された (Fig. 6)。ケミルミネッセンス強度とTBA値は、DHAの最大投与群にのみ有意な増加が認められた。肝臓のVE量も血清と同様にDHAの投与レベルの増加とともに減少していたが、有意差は、DHAが最大レベルの時にのみ認められた。肝臓のデータからは、3.1%が安全性の点からのカットオフポイントになる。

腎臓の共役ジエン量は多少増減は見られたが変化はなく、むしろ投与レベルの少ない群で減少傾向にあった (Fig. 7)。TBA値には全く有意な変化は観察されず、ケミルミネッセンス強

度も、DHAの最大投与群で増加傾向にあるものの有意ではなかった。VEのレベルは、DHA最大投与群で有意な減少が見られたが、血清や肝臓ほどの著しい低下ではなかった。腎臓のデータからは、8.4%の高い値にカットオフポイントがあった。

血清及び組織の過酸化脂質生成と抗酸化剤のVEレベルの変化から、3.1エネルギー%以上のDHAの摂取は、脂質過酸化反応に対する感受性を高めると共にVEの要求量を増加させた。このことは、DHAの多量摂取が抗酸化防御系の防御能を凌いだことを示唆している。しかし、この時にはまだ組織実質細胞の傷害は起きておらず、悪影響非観察最高摂取量（NOAEL）は3.1エネルギー%よりもさらに多い摂取レベル、むしろ8.4エネルギー%よりも多いレベルにあるのではないかと推察される。従って、成熟ラットは、若齢ラットと比較して、DHA摂取に伴う脂質過酸化反応感受性の亢進に対して抵抗性が大きいのかかもしれない。しかし、3.1%がたとえNOAELレベルであるとしても、こうした状況が長期間持続するとすれば生体にとっては好ましいことではない。このレベルにカットオフポイントを設定する理由である。

一方、血清脂質の変化を見ると（Fig. 8）、いずれの脂質もDHAの投与レベルの増加とともに減少し、総コレステロールとリン脂質濃度は、DHAの3.1エネルギー%以上で有意に減少していた。HDL-コレステロール濃度も8.4%で有意に減少していたが、HDL-コレステロールと総コレステロール濃度の比を取ると、ほとんど変化は見られなかった。TG濃度は個体間の変動が大きく、有意な変化とはならなかつ

た。DHAは、ラットではTGの低下効果が低いと報告されているので（23、24）、このことも有意差の得られなかった理由の一つかもしれない。従って、血清脂質の改善効果の点からは、3.1エネルギー%以上のDHAの投与が有効と考えられる。

以上の結果から、成熟ラットでは、エネルギー%で3%程度を上限とする摂取が有効性と安全性の両面から摂取レベルの一つの目安になると思われ、幼若ラットよりは摂取の許容レベルが大きかった（25）。

著者以外にも、DHAを用いて有効性と安全性の両面から、幼若ラットで血漿脂質の改善効果、血液凝固抑制、血小板凝集抑制、血小板数等の指標について検討している報告がある（26）。これによると、DHAとして3.6エネルギー%未満とされているが、著者と同様な考え方でカットオフポイントを決めると1.7%未満となり、幼若ラットを用いた著者らの結果とも近い値となっている。さらに多くの指標を用いることにより、より信頼性の高い結論が得られると思われる。また、これらの結果を適用したヒトでの試験も今後の検討課題である。なお、魚油で摂取する場合には、EPAやDHA等の多価不飽和脂肪酸の混合物での摂取となるが、この場合には、脂肪酸の過酸化のされ易さの比が、ジエン酸、トリエン酸、テトラエン酸、ペンタエン酸、ヘキサエン酸についてそれぞれ1:2:3:4:5とされているので（27）、摂取の許容量の比は、逆に、5:2.5:5/3:1.25:1となる。従って、DHAをEPAに置き換えたときには、DHAよりも1.25倍量の摂取が可能となる。魚油の場合には、その脂肪酸組成からこれらの係数を用いて荷重平均し、脂肪酸の摂取

許容量を求めることになる。しかし、この考え方はあくまでも脂肪酸の酸化のされ易さを指標にした場合に当てはまることに注意する必要がある。ちなみに、3エネルギー%の脂肪酸摂取量を平成10年国民栄養調査結果から計算してみると5.9gとなる。EPAとDHAの総摂取量は、日本人一人1日平均0.9g程度であるので(28)、他の多価不飽和脂肪酸の摂取を考慮してもかなりの許容量と考えられる。ただし、エネルギー%で表したラットでの結果を直接ヒトに外挿出来るかは、今後の検討課題である。

#### D. 結論

N-3系脂肪酸による脂質代謝の改善作用を有効に引き出し、しかも有害な過酸化脂質・フリーラジカルの生成を亢進させないドコサヘキサエン酸(22:6n-3, DHA)の適正な摂取レベルについて若齢ラットおよび1年齢の成熟ラットをモデル動物として用い検討した。その結果、若齢ラットでは1エネルギー%、成熟ラットでは3エネルギー%を上限とする摂取が有効性と安全性の両面から摂取レベルの一つの目安になると考えられる。今後、こうした結果もメルクマールの一つに加えたヒトでの適正な摂取レベルの検討が必要である。この点に関しては、総合研究報告書の方に記載する。

#### E. 引用文献

1. Dyerberg, J. (1986). Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. *Nutr. Rev.*, 44, 125-134.
2. Herold, P.M. & Kinsella, J.E. (1986). Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of

findings from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 43, 566-598.

3. Harris, W.S. (1989). Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J. Lipid Res.*, 30, 785-807.
4. Nestel, P.J. (1990). Effects of n-3 fatty acids on lipid metabolism. *Ann. Rev. Nutr.*, 10, 149-167.
5. Simopoulos, A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54, 438-463.
6. Hammer, C.T. & Wills, E.D. (1978). The role of lipid components of the diet in the regulation of the fatty acid composition of the rat liver endoplasmic reticulum and lipid peroxidation. *Biochem. J.*, 174, 585-593.
7. Mouri, K., Ikesu, H., Esaka, T. & Igarashi, O. (1984). The influence of marine oil intake upon levels of lipids, alpha-tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 30, 307-318.
8. Hu, M-L., Frankel, E.N., Leibovitz, B.E. & Tappel, A.L. (1989). Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J. Nutr.*, 119, 1574-1582.
9. Kaasgaard, S.G., Holmer, G., Hoy, C-E., Behrens, W.A. & Beare-Rogers, J.L. (1992). Effects of dietary linseed oil and marine oil on lipid peroxidation in monkey liver in vivo and in vitro. *Lipids*, 27, 740-745.

10. Saito, M., Kubo, K. & Ikegami, S. (1996). An assessment of docosahexaenoic acid (DHA) intake with special reference to lipid metabolism in rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 42, 195-207.
11. Chautan, M., Calaf, R., Leonardi, J., Charbonnier, M., Andre, M., Portugal, H., Pauli, A-M., Lafont, H. & Nalbone, G. (1990). Inverse modification of heart and liver alpha-tocopherol status by various dietary n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratios. *J. Lipid Res.*, 31, 2201-2208.
12. Meydani, M., Natiello, F., Golden, B., Free, N., Woods, M., Schaefer, E., Blumberg, J.B. & Gorbachi, S.L. (1991). Effect of long-term fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. *J. Nutr.*, 121, 484-491.
13. Kubo, K., Saito, M., Tadokoro, T. & Maekawa, A. (1997). Changes in susceptibility of tissues to lipid peroxidation after ingestion of various levels of docosahexaenoic acid and vitamin E, *Br. J. Nutr.*, 78, 655-669.
14. Kubo, K., Saito, M., Tadokoro, T. & Maekawa, A. (1998). Docosahexaenoic acid dose not promote lipid peroxidation in rat tissue to the extent expected from peroxidizability index of the lipid, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62, 1698-1706.
15. Rao, K.S. & Recknagel, R.O. (1968). Early onset of lipoperoxidation in rat liver after carbon tetrachloride administration, *Exp. Mol. Pathol.*, 9, 271-278.
16. Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.*, 15, 212-216.
17. Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95, 351-358.
18. Miyazawa, T., Tsuchida, K. & Kaneda, T. (1984). Riboflavin tetrabutylate: an antioxidative synergist of alfa-tocopherol as estimated by hepatic chemiluminescence. *Nutr. Rep. Intern.*, 29, 157-165.
19. Tsuchida, M., Miura, T., Mizutani, K. & Aibara, K. (1985). Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter of in vivo lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, 834, 196-204.
20. Fletcher, B.L, Dillard, C.J. & Tappel, A.L. (1973). Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal. Biochem.*, 52, 1-9.
21. Saito, M., Nakatsugawa, K., Oh-hashii, A., Nishimuta, M. & Kodama, N. (1992). Comparison of vitamin E levels in human plasma, red blood cells, and platelets following varying intakes of vitamin E. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 12, 59-68.
22. Saito, M., Kubo, K. & Ikegami, S. (1996). An assessment of docosahexaenoic acid (DHA) intake with special reference to lipid metabolism in rats. *J. Nutr. Sci.*

- Vitaminol., 42, 195-207.
23. Kobatake, Y., Kuroda, K., Jinnouchi, H., Nishide, E. & Innami, S. (1984). Differential effects of dietary eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids on lowering of triglyceride and cholesterol levels in the serum of rats on hypercholesterolemic diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 30, 357-372.
24. Ikeda, I., Wakamatsu, K., Inayoshi, A., Imaizumi, K., Sugano, M. & Yazawa, K. (1994). Alpha-Linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids affect lipid metabolism differently in rats. *J. Nutr.*, 124, 1898-1906.
25. Saito, M. & Kubo, K. (2001). An assessment of docosahexaenoic acid (DHA) intake from a viewpoint of safety and physiological efficacy in matured rats. *Ann. Nutr. Metab.*, submitted.
26. Yamada, N., Kobatake, Y., Ikegami, S., Takita, T., Wada, M., Shimizu, J., Kanke, Y. & Innami, S. (1997). Changes in blood coagulation, platelet aggregation, and lipid metabolism in rats given lipids containing docosahexaenoic acid. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61, 1454-1458.
27. Cosgrove, J.P., Church, D.F. & Pryor, W.A. (1987). The kinetics of the autoxidation of polyunsaturated fatty acids, *Lipids* 22, 299-304.
28. Sugano, M. & Hirahara, F. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71 (Suppl.), 189S-196S.
- F. 研究発表
1. 論文発表
- 1) Kubo, K., Saito, M., Tadokoro, T. & Maekawa, A. (2000). Preferential incorporation of docosahexaenoic acid (DHA) into nonphosphorus lipids and phosphatidylethanolamine protects rats from dietary DHA-stimulated lipid peroxidation. *J. Nutr.*, 130, 1749-1759.
- 2) Saito, M. (2000). Dietary docosahexaenoic acid does not promote tissue lipid peroxide formation to the extent expected from the peroxidizability index of the lipids. *BioFactors*, 12, 1-10.
- 3) 斎藤衛郎 (2001)、n-3系多価不飽和脂肪酸の生理的有効性と栄養学的側面から見た安全性評価、*栄養学雑誌*、59、1-18
2. 学会発表
- 1) 斎藤衛郎、久保和弘：ドコサヘキサエン酸の摂取による成熟ラット組織脂質過酸化反応感受性の変化、第54回日本栄養・食糧学会大会、2000年5月
- 2) 上野恵美、久保和弘、山口迪夫、斎藤衛郎：ドコサヘキサエン酸 (DHA)の投与に伴う組織脂質種脂肪酸組成の変動、第54回日本栄養・食糧学会大会、2000年5月
- 3) Saito, M. & Kubo, K. : An assessment of docosahexaenoic acid (DHA) intake from a viewpoint of safety and physiological efficacy in young and matured rats. *Japan Oil Chemists' Society / American Oil*

Chemists' Society World Congress 2000,  
October, 2000

健康危険情報

特に著しいものはなかった。

知的財産権の出願・登録状況

特に無し

**Table 1** Composition of experimental diets (g/100g of diet) and fatty acid composition of dietary lipids (%) for young rats.

Group		Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
DHA level (energy %) <sup>1</sup>		0	1.0	3.4	8.7
LA level (energy %) <sup>1</sup>		9.0	2.0	2.0	2.1
Basic ingredients <sup>2</sup>		90.0	90.0	90.0	90.0
Test lipids <sup>3</sup>		10.0	10.0	10.0	10.0
Olive oil		5.0	8.98	7.32	4.00
Safflower oil		5.0	0.50	0.63	0.88
DHA concentrate <sup>4</sup>		0.0	0.52	2.05	5.12
fatty acid	name				
16:0		8.8 <sup>5</sup>	9.5	8.2	5.2
16:1(n-7)		0.6	1.1	0.8	0.5
18:0		2.8	3.0	2.7	1.6
18:1(n-9)	OA	45.9	72.2	60.4	35.7
18:2(n-6)	LA	41.4	9.2	9.1	9.7
18:3(n-3)		0.5	0.6	0.4	0.4
20:5(n-3)	EPA	0.0	0.0	0.4	1.0
22:1(n-11)		0.0	0.0	0.6	1.4
22:3(n-3)		0.0	0.0	0.9	2.2
22:5(n-3)	DPA	0.0	0.0	0.9	2.0
22:6(n-3)	DHA	0.0	4.4	15.6	40.2
Σn-6		41.4	9.2	9.1	9.7
Σn-3		0.5	5.0	18.2	45.8
n-6/n-3		82.8	1.8	0.5	0.2
DBI <sup>6</sup>		1.3	1.2	1.8	3.2

<sup>1</sup> The Atwater energy factors were used for the energy % calculation. <sup>2</sup> The basic ingredients of the diets in all the groups were: casein, 20.0g; DL-methionine, 0.3g; cornstarch, 15.0g; sucrose, 22.5g; glucose, 22.5g; cellulose powder, 5.0g; AIN-76 mineral mixture, 3.5g; AIN-76 vitamin mixture, 1.0g; choline bitartrate, 0.2g. <sup>3</sup> Fat energy % is 21.6 %. <sup>4</sup> The purity of DHA concentrate (ethyl ester form) is 83 %. <sup>5</sup> Values of fatty acids less than 0.3 % are not shown. <sup>6</sup> Double bond index expresses mean double bond number and is the sum of the fraction of each fatty acid × the number of double bonds in that acid. OA, oleic acid; LA, linoleic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; DPA, docosapentaenoic acid; DHA, docosahexaenoic acid.

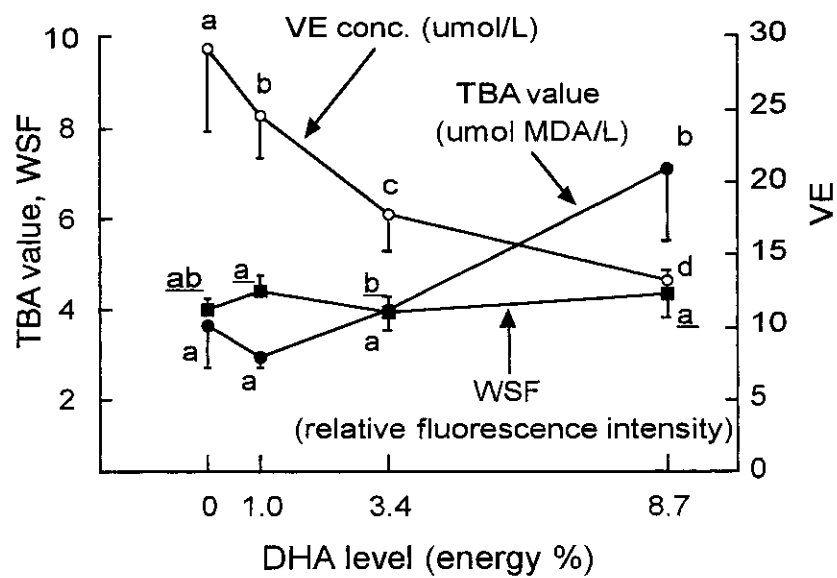


Fig. 1 Influences of graded levels of dietary DHA on TBA value, water-soluble fluorescent substance (WSF) level and  $\alpha$ -tocopherol (VE) concentration in serum of young rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6-7$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

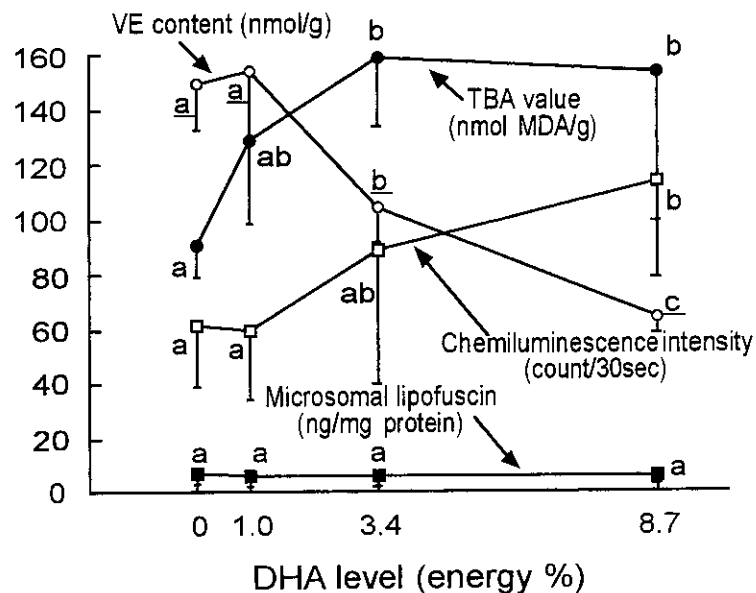


Fig. 2 Influences of graded levels of dietary DHA on TBA value, chemiluminescence intensity, microsomal lipofuscin content and  $\alpha$ -tocopherol (VE) content in liver of young rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6-7$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).



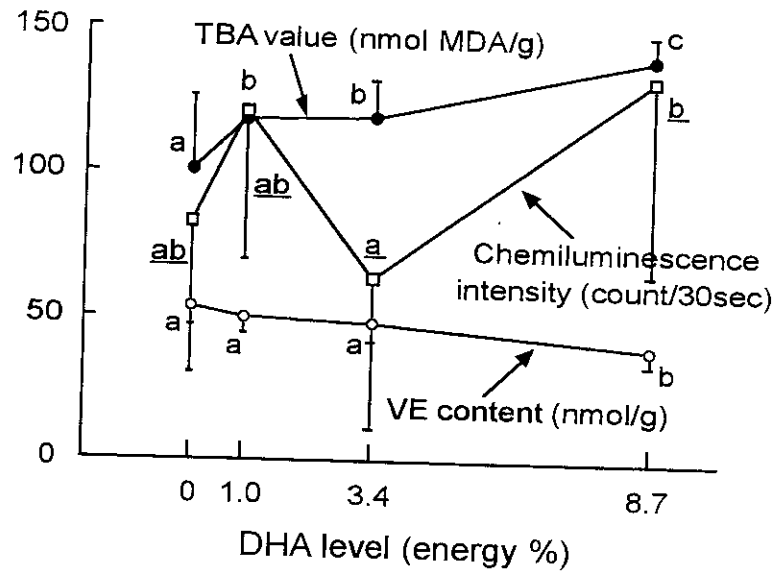


Fig. 3 Influences of graded levels of dietary DHA on TBA value, chemiluminescence intensity and  $\alpha$ -tocopherol (VE) content in kidney of young rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6-7$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

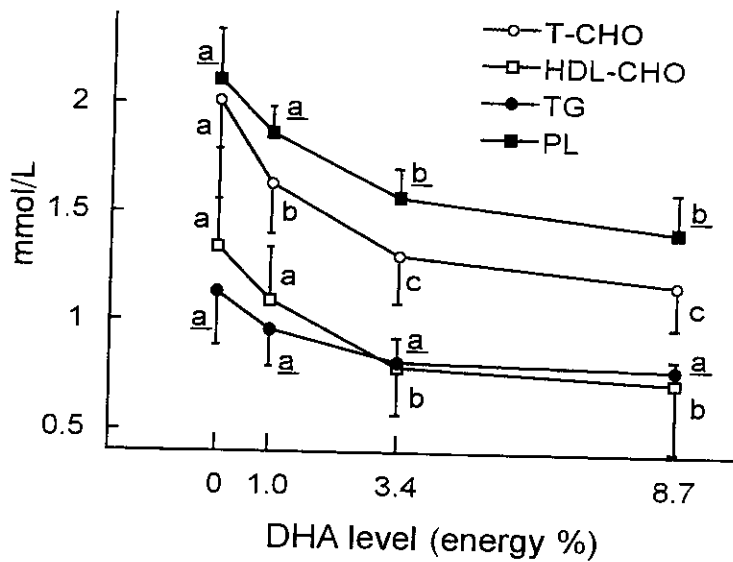


Fig. 4 Influences of graded levels of dietary DHA on serum lipid concentrations (mmol/L) in young rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6-7$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

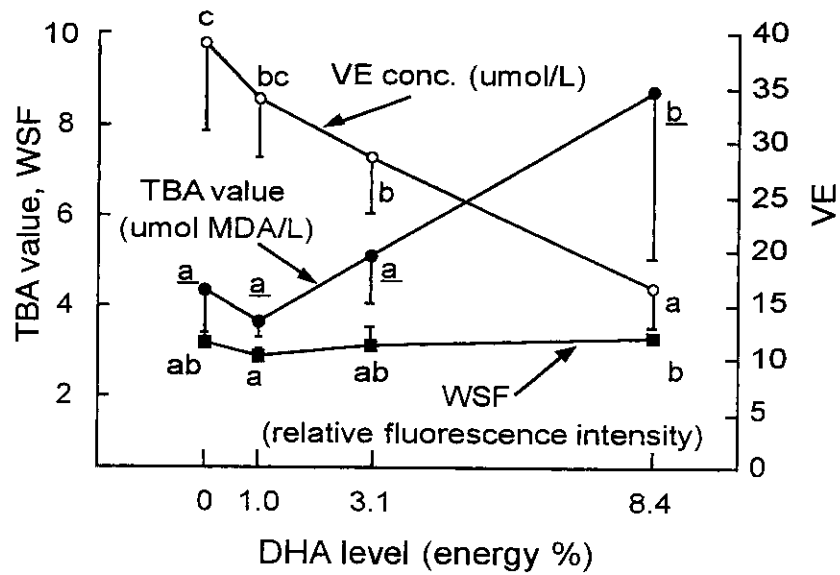


Fig. 5 Influences of graded levels of dietary DHA on TBA value, water-soluble fluorescent substance (WSF) level and  $\alpha$ -tocopherol (VE) concentration in serum of matured rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

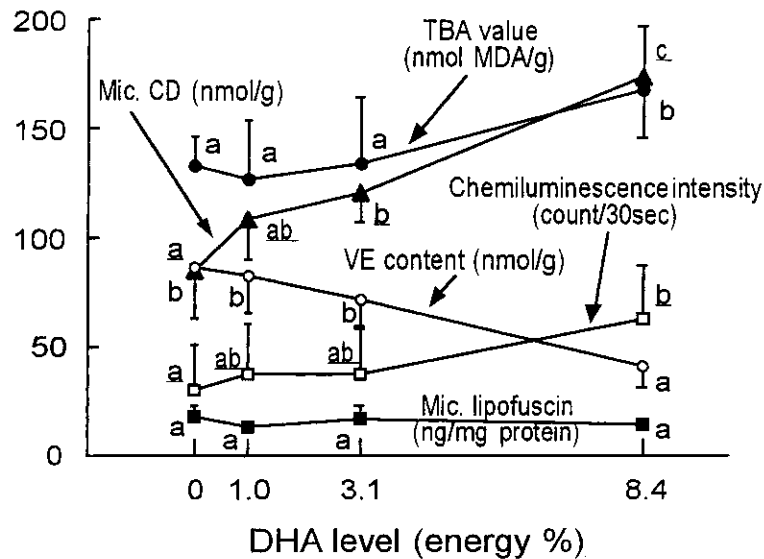


Fig. 6 Influences of graded levels of dietary DHA on TBA value, chemiluminescence intensity, microsomal conjugated diene and lipofuscin contents and  $\alpha$ -tocopherol (VE) content in liver of matured rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6-7$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

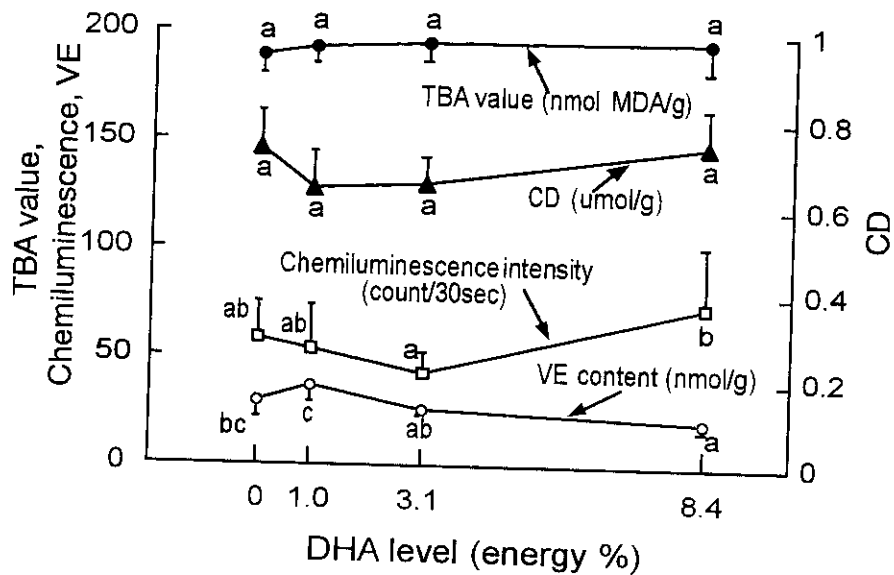


Fig. 7 Influences of graded levels of dietary DHA on conjugated diene content, TBA value, chemiluminescence intensity and  $\alpha$ -tocopherol (VE) content in kidney of matured rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

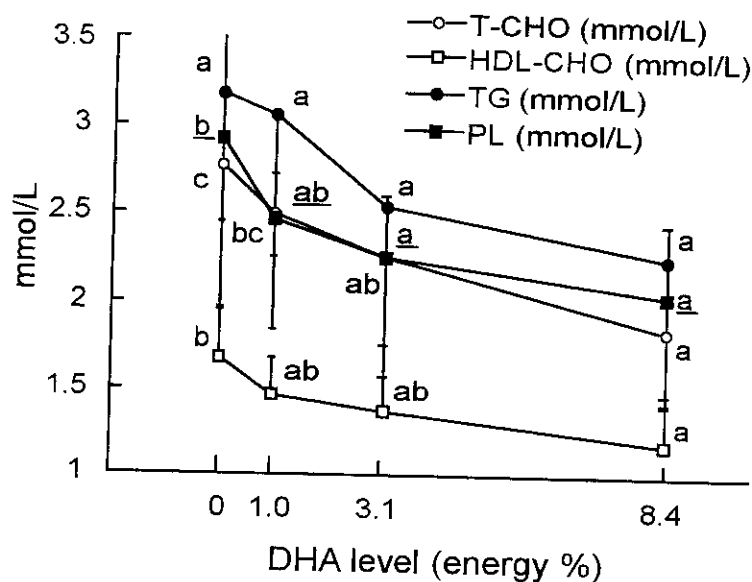


Fig. 8 Influences of graded levels of dietary DHA on serum lipid concentrations (mmol/L) in matured rats. ( $M \pm SD$ ,  $n = 6$ )

Mean values in the same analytical item not followed by a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(別添1)

## 厚生科学研究費補助金総合研究報告書概要版

研究費の名称=厚生科学研究費

研究事業名=食品安全総合研究事業

研究課題名=特定保健用食品素材の安全性確保に関する研究

国庫補助金精算所要額 (円) =14,400,000 (1998年度)

14,400,000 (1999年度)

14,400,000 (2000年度)

研究期間=1998-2000

主任研究者名= 中村治雄 (三越厚生事業団)

分担研究者名= 池田義雄 (タニタ体重科学研究所)<sup>(1)</sup>、猿田享男 (慶應義塾大学医学部内科)<sup>(1)</sup>

奥 恒行 (長崎県立シーボルト大学)<sup>(2)</sup>、斉藤衛郎 (国立健康・栄養研究所)<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> 1998年度より <sup>(2)</sup> 1999年度より <sup>(3)</sup> 2000年度より

研究目的= 生活習慣病の管理が注目されている反面、コレステロール値、血圧、血糖、肥満の増加、便秘などが全般に増えつつある現状である。特に血清コレステロール濃度は、ここ10年に10-15 mg/dl程度上昇しており、年に約1mg/dlの増加が確認されている。これらの点を考えると、食事、運動などの一般的生活習慣の注意が、その対策として重要である。

現在、特定保健用食品として汎用されている素材として、それぞれ境界域コレステロール値に対して大豆蛋白が、血圧の軽度上昇に対してはアミールS、杜仲葉エキスなどが、血糖の上昇および便秘異常に対して難消化吸収性デキストリンや糖アルコールがある。さらに肥満対策の一環として各種のものがあげられているが、その1つに大豆蛋白の応用がある。

動脈硬化の進展を阻止する意味で、各種の脂肪酸が応用されているが、なかでもEPA、DHAなどの不飽和脂肪酸が注目されているが、その適正な摂取量はなお不明である。

これらの食品素材は、その性質上長期にわたって摂取される可能性をもっており、その意味では有効性の他に、安全性も確認され、必要があれば対策もとられなければならない。

1998年以来、大豆蛋白、アミールS、杜仲葉エキス、難消化性デキストリンを、1999年より難消化性糖アルコールについて、それぞれ同意を得られたヒト症例について、有効性の確認と共に、安全性を中心に検討し、問題点については是正策を構ずることを目的とし研究を行った。これらの食品素材が安全に摂取できれば、生活習慣病の是正に大きく貢献するものと考えられる。また、2000年より肥満減量の一手段として大豆蛋白の応用、DHAの適正摂取量などはラットを用いて検討し、ヒトへの外挿の可能性を探る一手段としている。

研究方法=大豆蛋白：血清コレステロール値が170~230 mg/dlの正常または境界領域の男性(25-40才)医療関係者延55例に大豆蛋白(予め実験に適切であると検討してきた20g/日)を3週間摂取し、非摂取3週間と、ビタミンE併用摂取3週間を置く交叉試験を実施した。この間1週毎に早朝空腹時に採