

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

目 次

課題番号

20030933A KH51041	臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究	梨井 康 …… 1
934A KH51042	組換えDNA食品遺伝子産物の慢性経口毒性評価モデルの確立	廣瀬 雅雄 …… 5
935A KH51043	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦 善治 …… 10
936A KH51044	細胞内脂質輸送系に着目した血清脂質改善薬の開発のための基礎的研究	最上 知子 …… 16
KH51045	粘膜インフルエンザワクチンの実用化に関する研究	佐多 徹太郎 …… 21
937A KH51046	日本人糖尿病感受性遺伝子に基づく脂肪細胞を分子標的とした糖尿病・肥満の予防及び治療薬の開発	門脇 孝 …… 24
938A KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチン開発のための基礎研究	竹森 利忠 …… 27
939A KH51048	ノーウォークウイルスの超高感度核酸定量システム、及びベッドサイド抗原検出システムの開発	武田 直和 …… 31
940A KH51049	ワクチン創製の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島 朝人 …… 38
941A KH51050	食品および環境中の食中毒原因菌の病原因子に対する免疫学的高感度検出法に関する研究	五十君 静信 …… 43
942A KH51051	安全なアジュバントを用いた粘膜ワクチンの開発に関する研究	後藤 紀久 …… 48
943A KH51052	リポソーム表面結合型抗原のアレルギー予防・治療への応用に関する研究	内田 哲也 …… 55
944A KH51053	肺炎球菌感染症の標準的抗体価測定方法の確立に関する研究	岡部 信彦 …… 61
945A KH51054	PPAR α をターゲットとした生活習慣病予防薬の開発	片山 茂裕 …… 64
946A KH51055	感染症領域における先端的遺伝子診断技術の開発に関する研究	薄井 貢 …… 68
947A KH51056	乳幼児下痢症の原因ウイルス検出法に関する研究	西尾 治 …… 71
948A KH51057	可溶性ウイルス受容体等によるウイルス吸着阻止を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口 文広 …… 77
949A KH51058	EPA・DHA含有エステル交換構造脂質の体脂肪蓄積抑制効果に関する研究	斎藤 衛郎 …… 86
950A KH51059	エネルギー消費調節機構に立脚した生活習慣病予防薬に関する基礎研究	大坂 寿雅 …… 89
951A KH51060	遺伝子解析によるヒトエンテロウイルス同定の標準化	清水 博之 …… 93
952A		

EPA・DHA含有エステル交換構造脂質の体脂肪蓄積抑制効果に関する研究

所属 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 食品機能研究部
研究者 斎藤 衛郎

研究要旨 EPA、DHA 含有構造油脂の有効性評価を行なうため、純度約 70~80%の構造油脂を合成し、ラットに与えた。その結果、構造油脂の摂取は顕著な脂質低下作用をもたらした。DHA を含む構造油脂に肝臓リン脂質脂肪酸組成およびリンパ管吸収に構造による差異を認めた。

分担研究者

- (1) 独立行政法人 国立健康・栄養研究所食品機能研究部 永田純一
- (2) 日清オイリオ株式会社 研究所 笠井通雄

A. 研究目的

肥満は、生活習慣病である心疾患・高血圧・糖尿病の誘発因子となり、生活習慣病の中でも鍵となる疾病である。従って、その予防および改善は、QOLの向上のために非常に重要である。肥満の形成は、日常の食習慣に大きく影響を受けるため、食事内容、特に摂取される脂質の質と量あるいは摂取バランスの不適切さが主要な病因となりうるこれがこれまでの研究で明らかになっている。

本研究は、肥満予防および改善効果を有する高度不飽和脂肪酸の効率的な供給と体脂肪蓄積抑制に優れた新規油脂の合成およびその生理的有効性の評価を行うことを目的とした。これまで肥満と食用油脂の関連性に関する多くの報告がなされているが、効率的な吸収と代謝特性に優れた油脂は、必ずしも見いだされていない。そこで今回エステル交換技術を用いて位置特異性と吸収代謝特性を考慮した新規構造油脂をデザインし、体脂肪蓄積に対し抑制的に働く構造油脂の創出を試みた。これらの油脂は、生活習慣病のリスクファクターとなりうる脂質をその構成脂肪酸の生理的特性を生かして効率よく利用することにより体脂肪蓄積の抑制を介して生活習慣病の改善をもたらすことが期待される。本研究は、人への適用を前提に、その有効性と安全性を確認するための基礎データを得ることを目的とする。

そこで今年度は、新規に合成された構造油脂の機能性を明らかにするため、高コレステロール食条件下、実験動物に自由摂取させ成長、脂質代謝、体脂肪蓄積および安全性に及ぼす影響に関して従来の食用油（大豆油）と比較検討を行った。また、リンパ管吸収実験および脂肪酸結合部位と脂肪組織脂肪酸組成あるいは肝臓リン脂質脂肪酸組成との関連性も調べた。さらに実験に用いた構造油脂の酸化安定性に関する検討を行い、食用油としての利用適性に関する情報を収集した。

B. 研究方法

EPA および DHA と中鎖脂肪酸 (C8) を組合わせた構造油脂をリパーゼを用いて反応を行い、C8-EPA-C8、EPA-C8-C8、C8-DHA-C8 および DHA-C8-C8 の 4 種類を合成した。各構造油脂が体脂肪蓄積および脂質濃度に及ぼす影響を調べるため、1%のコレステロールを含み、油脂を重量比 10%（構造油脂を 3%+ひまわり油を 4%+大豆油 3%レベル）で含む AIN-93G に基づいて作成された飼料を 5 週齢の雄 Wistar 系ラットに与え、ひまわり油を 7%+大豆油 3%からなる食餌を対照群として 28 日間自由摂食させた。毎週末梢血管より採血を行い、血中コレステロール濃度の経日的変化を市販酵素試薬で測定した。実験期間終了後一夜絶食を行い、腹部大動脈より採血を行い、分析に必要な血液、肝臓、腎臓および各脂肪組織を採取し、主要臓器は重量を測定した。血清生化学分析は自動測定装置を用い分析を行った。また摘出した肝臓の脂質画分をクロロホルム-メタノール混液により抽出を行い、肝臓に含まれる脂質濃度を常法にて分析した。抽出した肝臓総脂質に含まれる肝臓リン脂質画分は、薄層クロマトグラフィーによ

り分画を行い、抽出を行った。脂肪組織もクロロホルム-メタノール混液により抽出を行い、それぞれの抽出液は、硫酸-メタノール溶液 (2:230 (v/v)) を用いてメチル化を行い、ガスクロマトグラフィーにて分析を行った。また代謝性臓器はホルマリン固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った後、病理組織学的検討を行った。

リンパ管カニューレ実験は、13 週令の Wistar Rat を一週間予備飼育し、実験に供した。手術前日に絶食をし、ネンプタル麻酔下で、リンパ管と胃にチューブを留置し、縫合した。ポールマンゲージを用いてラットを固定し、投与サンプルの調製は、各構造油脂 380mg/匹とタウロコール酸ナトリウムと牛血清アルブミンと生理食塩水より、ホモジナイザーを用いエマルジョン液にした。調製したサンプルを投与し、0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 時間後のリンパ液を採取した。

過酸化物価は、電位差滴定法にて測定を行い、CDM 試験はランシマツ装置 (メトローム社) を用いて、酸化により生成した揮発性分解物を捕集し、水導電率の屈折点までの時間を測定し、50us/cm に達する時間を測定した。

C. 研究結果

体重増加量および脂肪組織重量は DHA-C8-C8 群で、他の群と比較して有意に ($P < 0.05$) 高い値を示した。構造油脂を摂取した血清脂質濃度は、大豆油群と比較しいずれも有意に ($P < 0.05$ or 0.01) 低い値を示した。DHA を含む構造油脂の血清総コレステロール濃度は、EPA を含む構造油脂より低い値を示した。特に、C8-DHA-C8 群のコレステロール濃度は最も低い値を示し、EPA-C8-C8 群の値よりも有意に低い値 ($P < 0.05$) を示した。トリグリセリド (TG) 濃度は、EPA を含む構造油脂摂取群で DHA を含む油脂と比較して低い値を示した。肝臓総コレステロール濃度は C8-EPA-C8 群が最も高い値 ($P < 0.01$) を示し、C8-DHA-C8 群も他の群と比較して有意に高い値 ($P < 0.05$) を示した。肝臓 TG 濃度は、EPA-C8-C8 摂取群が大豆油群と比較して有意に低い値 ($P < 0.05$) を示した。また、摂取に伴う病理組織学的顕著な変化は、認められなかった。

副腎丸脂肪組織の脂肪酸組成は、食事油脂の脂肪酸組成を反映した。EPA-C8-C8 および C8-EPA-C8 摂取群は EPA および C22:5 の割合が増加し、DHA-C8-C8 および C8-DHA-C8 摂取群は DHA 割合が増加した。C8 は EPA-C8-C8 および DHA-C8-C8 摂取群で C8-EPA-C8 および C8-DHA-C8 摂取群と比較してより高い蓄積を示した。腎

周囲脂肪組織の脂肪酸組成も同様に、食事脂肪酸組成を反映した結果となった。肝臓ホスファチジルコリン (PC) 画分への構造油脂の影響は、アラキドン酸 (20:4)、EPA および DHA の割合に有意な変化をもたらした。アラキドン酸は、大豆油 > EPA を含む構造油脂 > DHA を含む構造油脂の順で有意な差を認めた。EPA は、EPA を含む構造油脂が最も多く割合が増加した。DHA は、DHA を含む構造油脂が最も多く割合が増加したが、DHA-C8-C8 を摂取した群は、C8-DHA-C8 と比較して有意な ($P < 0.05$) 増加を示した。肝臓ホスファチジリエタノールアミン (PE) 画分への構造油脂の影響は、PC 画分とほぼ同様の傾向を示した。PE 画分のアラキドン酸あるいは EPA の割合は、PC 画分のそれらよりも低下し、DHA の割合が増加した。

油脂の過酸化物価に関して、構造油脂は脂肪酸に比べ緩やかに酸化し、25 日目に 900meq/kg に達した。構造による過酸化物価の違いは、D88 に比べ 8D8 は 2, 7, 10 目で有意に低値を示したが、16, 25 日目では差を認めなかった。E88 と 8E8 の過酸化物価は 16 日目に有意差を認めたが、その他において差はみられなかった。CDM 試験では、構造油脂の間で差は無かった。

リンパ管吸収実験において、それぞれの構造油脂の EPA あるいは DHA の吸収に関する構造の差異は認められなかった。しかし、8D8 の DHA リンパ液中濃度は D88 より高い値を示し、効果的な DHA 吸収形態であると考えられた。

D. 考察

EPA・DHA を含む構造油脂のラット血清、肝臓脂質濃度および体脂肪蓄積に及ぼす影響を調べた。その結果、重量比 3%での構造油脂の摂取は脂肪酸による機能性が反映した。

脂肪組織脂肪酸組成に対して構造特異性に基づく顕著な相違は観察されなかったが、肝臓 PC 画分の DHA 量の割合に構造による差異を認め、PE 画分での DHA 量の比率の増加を認めた。DHA は核内受容体のリガンドとして作用するため、脂質代謝調節あるいは脂肪細胞の分化誘導に関与する可能性があり、脂質の構造特異性と機能性を探る上で今後の検討課題と考えられた。

構造油脂間の酸化安定性に関して、1(3)位に DHA が存在するより 2 位に位置する構造油脂が、安定性に優れることが明らかであった。これは、構造上 1 および 3 位に配置する飽和型中鎖脂肪酸の作用により酸化安定性が増したと推定される。一方、1(3)位に多価不飽和脂肪酸を配した場合、酸化安定性が保持されない配座

をとるものと考えられる。

これらの結果から、2位に高度不飽和脂肪酸を配した構造油脂を中心に検討を進め、長期摂取による生体内過酸化指標の変動、魚油との比較による有効性に関する評価検討、その他、代謝調節因子に及ぼす影響あるいはヒトでの摂取による生理効果など様々な効果に関する検討を行う予定である。それらの結果を基に効率的かつ効果的な機能性食用油脂としての実用化を目指したい。

E. 結論

以上の結果より、EPA あるいは DHA を構成脂肪酸とする構造油脂は、顕著な血清脂質の改善効果を示したが、体脂肪蓄積に対し抑制的な効果を観察しなかった。生理学的有効性に関して、脂肪酸結合位置特異性による有効性よりもむしろ脂肪酸による効果が顕著であり、構造特異性は明確ではなかった。従って、より効果的な構造設計の検討が必要かもしれない。一方、リンパ管吸収および酸化安定性に関して、DHA を配する構造油脂間に差異を認め、2位に DHA を配する構造油脂は高い DHA 吸収率と酸化安定性を示す傾向が示された。これは構造上 1 および 3 位に配置する飽和型中鎖脂肪酸の作用により酸化安定性が増したと推定される。1 あるいは 3 位に高度不飽和脂肪酸を配した場合、酸化安定性が保持されない配座をとるものと考えられた。これらの構造油脂は、機能性と酸化安定性を備えた構造を有する油脂と考えられた。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

平成16年9月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社