

201131016A

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

アラキドン酸補給の安全性に関する研究

(H22 - 食品 - 一般 - 002)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浜崎 智仁

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

アラキドン酸補給の安全性に関する研究	1
浜崎智仁・奥山治美	

II. 分担研究報告

1-1. アラキドン酸補給の安全性に関する研究（疫学調査の部分）	8
浜崎智仁	
1-2. 我国の中高年及び高齢者の食生活と血液中のアラキドン酸等多価不飽和 脂肪酸の割合について	11
鈴木平光	
2. 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）を用いるアラキドン酸の 病態進行に対する影響の検討	16
大原直樹	
3. アラキドン酸補給の炎症への影響の評価	33
内藤由紀子	
4. 胎仔期のアラキドン酸が乳癌発症に及ぼす影響	49
螺良愛郎	
5. アラキドン酸補給食がマウス眼組織の形成に及ぼす影響	55
小林哲幸	
6. 発がんプロモーション過程への影響評価	64
永田伴子	
7. ラットの網膜、NK細胞活性、骨格禁に及ぼすアラキドン酸長期投与の 影響に関する研究	85
橋本道男	
8. 老若マウスの脳機能に及ぼすアラキドン酸の比較検討	91
守口 徹	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	99
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	100
-----------------------	-----

I. 総括研究報告

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） 総括研究報告書

「アラキドン酸補給の安全性に関する研究」

研究代表者 浜崎 智仁 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授
研究分担者 奥山 治美 金城学院大学脂質栄養オープンリサーチセンター 教授
研究協力者 鈴木 平光 女子栄養大学栄養学部 教授

研究要旨

アラキドン酸（ARA）補給の安全性に関する研究の結果は、次の5項目に大別できる。

1. 脳機能・脳卒中への影響 老齢マウスにARAを投与すると脳内のDHAが有意に低下した。若齢のn-3系脂肪酸欠乏マウスにARAを投与すると、自発運動が亢進した（守口）。脳卒中易発症高血圧自然発症ラットへのARA投与は、出血、血圧、麻痺、死亡等に影響を与えなかったが、雌の血清中リン脂質濃度が用量依存性に低下した（大原）。

2. 眼組織・運動機能に及ぼす影響 魚油抜き飼料で2世代飼育したラットにARAを投与したところ3ヶ月で右眼での網膜電位の低下が抑えられた（橋本）。眼組織の異常が出やすいマウス（C57BL/6）ではARA投与により、♀胎児の眼組織にリゾリン脂質が増加した。これは♀胎児に眼の異常が出やすいことと一致する（小林）

3. 発癌と発癌プロモーションへの影響 ヒト乳癌細胞株を移植したヌードマウスではARAの用量依存的に、乳癌細胞の増殖が促進された（螺良）。発癌プロモーションモデルでは、生存率・担癌動物発生率に差はなかったが、膀胱の乳頭腫発生がARAの投与で用量依存的に増えた（永田）。

4. アレルギー・炎症性疾患・免疫能への影響 魚油抜き飼料で2世代飼育した若年ラットにARAを投与したところNK活性が低下した。老齢ラットでは下肢骨格筋の酸化ストレスが増加した（橋本）。薬物誘導大腸炎モデルラットでは高用量ARA投与で粘膜下浮腫の増加、マクロファージの浸潤増加など、炎症が亢進する所見が得られた（内藤）。

5. 情報収集・摂取量評価 DHAの多い魚油の摂取は血中のARAを増加させ、EPAの多い魚油の摂取はARAを低下させる傾向があった（鈴木）。400名を超える疫学調査で、赤血球中のEPAとARAに逆相関、DHAとARAに正相関が見られた（浜崎）。健常女性の顔面のシミおよびシワについて解析したところ、シミの程度とARAに正の相関が見られた、30歳代に限れば、シワの長さもARAに強い相関が見られた（浜崎）。

【結論】 動物実験での対照油は、日本人の摂取油脂に近いものとした。これにARA油を補給すると、がん、炎症性の亢進、運動機能低下などが認められた。またマウス胎児で眼の奇形が発生し、女性の皮膚に好ましくない影響を与える可能性が高い。これらの結果、癌を含む炎症性疾患が増えている現在、一般者にARA油を補給することは避けるべきであり、マウス胎児に催奇性を示したことは、サプリメントの安全性に根本的な問題を提起していると考えられる。

研究分担者

奥山 治美 (金城学院大学脂質栄養オープン
リサーチセンター 教授)

大原 直樹 (金城学院大学薬学部 教授)

内藤由紀子 (独立行政法人国立循環器病研究
センター 室長)

螺良 愛郎 (関西医科大学医学部 教授)

小林 哲幸 (お茶の水女子大学大学院 教授)

永田 伴子 (財食品薬品安全センター秦野
研究所 副所長)

橋本 道男 (島根大学医学部 准教授)

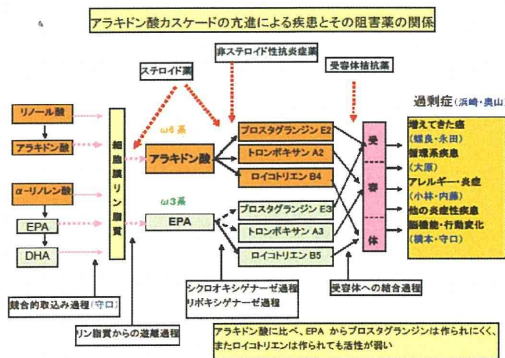
守口 徹 (麻布大学生命・環境科学部 教授)

研究協力者

鈴木 平光 (女子栄養大学栄養学部 教授)

A. 研究目的

60年代より、リノール酸(アラキドン酸(ARA)前駆体)の摂取増に伴い、ARAカスケードを抑える医薬品が有効な疾患が増えてきた(流れ図)。このような状況で、ARAをわざわざ補給することが安全かどうかを評価することを目的とする。前年度は、国内で安価なARAの入手ができなかったため、国外から輸入することになり実験の開始が遅れた。そこで、本年度はその分を取り返すべく、できるだけ速やかに研究を終了させることにした。



未熟児用粉ミルクにARAを添加することの安全性に関しては、世界的なコンセンサスがある。しかし、成人にサプリメントとしてARA

を投与し、摂取量を2倍にしても安全だろうか。ARAの組織での濃度あるいは摂取量とガンの死亡率に相関があることが知られており、また心疾患死亡率とに相関があることから、安全性を検討することが必要となる。そこで、当研究班はARAの安全性を再評価し、結果を公表する必要性を強く感じた。

最近、前駆体のリノール酸が十分に存在する条件でもARAの補給が脳機能を向上させ(動物実験・臨床試験)、ARA補給で血栓傾向が亢進するような副作用は認められなかった(臨床試験)と報告された。一見説得力のある論文であるが、問題点がいくつか見つかっており、その安全性と有効性の結論に疑問がもたれる。

具体的には、当研究班では、すでに日本でサプリメントとして市販され、また育児用ミルクに添加が検討されている発酵ARA油と同製法によるARA油を輸入し、市販品と脂肪酸組成・含量がほぼ同等であることを確認した。そこで輸入されたARA油を含む餌で動物実験を開始し、炎症性、発癌のプロモーション過程、加齢ラットにおける脳機能などに及ぼす影響を広範囲に評価する事とした。なお、この研究班が組織される前に終了した介入試験あるいは疫学調査をARAに関して再検討することとした。

B. 研究方法

1-1. ARA補給の安全性に関する研究(総括及び疫学調査)・・・浜崎・奥山

全体の研究をまとめ、ARA補給が安全かどうかについて検討した(総括)。ARAの補給が安全であるかを調べる一つ的手段として、すでに終了したヒトでの調査を再検討することにした。132名(20-60歳、健常女性)につき、血清中のARAとロボスキン・アナライザーによる皮膚の状況について相関を検討した。次に健常人456名での疫学調査を見直し、ARAと他の脂肪酸の関連を調べた(疫学調査)。

1-2. 我国の中老年及び高齢者の食生活と血液

中のARA等多価不飽和脂肪酸の割合について……鈴木

すでに終了した今回の事業とは何ら関係のない介入試験を基にしてARAにつき再調査した。内容は、中高年者に魚油を含む種々の食品を投与するものである。今回の研究では、血液中のARAを含む種々の脂肪酸の変化を検討した。

2. 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の病態進行に対するARA投与の影響の検討……大原

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)を用いた13週間(90日間)反復投与毒性試験を実施した。雌雄それぞれ32匹のSHRSPを1群8匹からなる4群に分け、ARA 0、5、35および240 mg/kgに該当するARA含有油を1日1回強制経口投与した。ARA含有サプリメントに目安として設定されている1日摂取量(ARAで240 mg)と体重当たりの換算ではほぼ同量を低用量、その約50倍を高用量とし、公比7で中用量群を設けた。

3. ARA補給の炎症への影響の評価……内藤

ARA補給による炎症性疾患への影響を調べるため、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導大腸炎モデルラットを用い、ARA投与による影響を調べた。実験では、雄性WistarラットにARA 0、5、35または240 mg/kgを8週間混餌投与し、第8週(7日間)は大腸炎を誘導するためにDSSを並行投与した。また、DSS投与が有効であるか確認するため、および正常動物へのARA補給の影響を調べるため、DSSを投与しない群(投与期間8週間、ARA 0または240 mg/kgのみ投与)も設定した。

4. 胎児期の摂取脂肪酸が乳癌発症に及ぼす影響の評価……螺良

① N-メチル-N-ニトロソ尿素(MNU)誘発乳癌発症ラットモデルを用いて、ARA補給

が乳癌発症に及ぼす影響につき検討した。雌Lewis系ラットに交配期・妊娠期・授乳期にARA添加食(0.13%, 0.50%, 2.01%)を摂取させた。50日齢雌仔ラットに50 mg/kg MNUを単回腹腔内投与し、投与14週まで乳癌発症の状況ならびに全身乳腺組織を病理組織学的に検索した。

② 雌BALB/c-nu/nu系マウスに4週齢から基礎食(ARA含有0.008%)・ARA添加食(0.13%, 0.50%, 2.01%)を摂食させ、6週齢時に 2.5×10^6 cells/animalのKPL-1ヒト乳癌細胞株を右腋窩乳腺組織内に移植した。35日後に解剖し、腫瘍塊の体積、重量の比較及び病理組織学的検索を行った。

5. ARA補給食がマウス眼組織の形成に及ぼす影響……小林

ARAを過剰摂取すると、特定系統の雌性マウス胎仔において眼組織の発達異常が高頻度で発生することが報告されている。本研究では、その機構を明らかにするために、眼組織の発達異常が起こりやすい系統であるC57BL/6マウスを用いて各種脂肪酸補給食で飼育し、その胎仔の眼組織中のリン脂質分子種について質量分析装置を用いたメタボローム解析を適用した。

6. 発がんプロモーション過程への影響評価……永田

6週齢のF344系雄ラット100匹を1群20匹の5群に分けた(4群にはARA投与)。ARA投与前に、中期多臓器発癌モデル作製を作成した(N-diethylnitrosamineを単回投与、N-methyl-N-nitrosoureaを第1および2週に4回投与、1,2-dimethylhydrazine dihydrochlorideを第3および4週に4回投与)。また、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamineを第1および2週に、dihydroxy-di-N-propylnitrosamineを第3および4週に飲水投与した。イニシエーション処置終了後1週間からARA摂取量が0、60、250および1000 mg/kgとなるように飼料を各

群に24週間自由摂取させた。イニシエーション処理しなかった群には1000 mg/kgの飼料を与えた。

7. ラットの網膜、NK細胞活性、骨格筋に及ぼすARA長期投与の影響に関する研究……橋本

① 魚油抜き飼料で2世代にわたり飼育した21カ月齢のウイスター系加齢雄ラットを2群に分け、ARA群にはARA (240 mg/kg)を、コントロール群には基礎混合油(牛脂:大豆油:菜種油=2:1:1)を13週間にわたり経口投与した。

② 魚油抜き飼料で2世代にわたり飼育した2カ月齢のウイスター系加齢雄ラットに下記の3種の飼料を1カ月間投与し、網膜電位を投与前後で測定した。飼料:ARA群(240 mg/kg BW/day)、DHA群DHA (240 mg/kg BW/day)、コントロール群(基礎混合油;牛脂:大豆油:菜種油=2:1:1)。

8. 老若マウスの脳機能に及ぼすARAの比較検討……守口

昨年度、我々はn-3系脂肪酸欠乏(n-3 Def)ならびにn-3系脂肪酸正常(n-3 Adq)の老齢マウスを用いて、ARAの長期投与後の記憶学習ならびに情動行動、運動協調性等へ及ぼす影響を検討し、ARAの投与が自発運動量の上昇を伴った運動機能の低下を示す結果を得た。今年度は、これら行動試験に用いた動物から採取した血液、脳組織の脂肪酸分析を行ない、行動試験との関連性を考察した。

倫理面への配慮

上記研究で1. に関してはヒトでのデータを含んでいる。これらの研究は、当研究班が企画したのではなく、研究時にすでに終了していたものを利用している。なお、それぞれの研究は倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

1-1. ARA補給の安全性に関する研究(総括及び疫学調査)……浜崎・奥山

ARA補給が安全かについて検討した。全体の研究をまとめに関しては、Dの「考察」を参照されたし(総括)。額以外の部位でシミの面積とARAに正の相関が見られた($r=0.24$, $p=0.006$, $n=132$, 各種補正後)。30歳代に限れば、シワの長さとはARAに強い正相関が見られた($r=0.47$, $p=0.006$, $n=30$, 補正後)。456名での疫学調査では、赤血球中のEPAとARAに強い負の相関があり($r=0.27$, 年齢・性別補正後)、DHAとARAには正の相関が見られた($r=0.23$, 年齢・性別補正後)。この結果は、鈴木らの調査と非常に似ている。

1-2. 我国の中老年及び高齢者の食生活と血液中のARA等多価不飽和脂肪酸の割合について……鈴木

中老年及び高齢者の血漿脂質に占めるARAの割合は、4.8~5.9%の範囲にあったが、これには日々の食生活が影響している可能性がある。通常摂取量とほぼ同量の魚油を3~6カ月間強化する事で、血漿脂質中のARAの割合が変化することが認められた。しかし、DHAが多い魚油とEPAが多い魚油では影響が異なり、DHAはARAを増加させ、EPAは減少させる傾向にあった。なお、この時、魚油摂取の影響は、1.0%以内であった。

2. 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の病態進行に対するARA投与の影響の検討……大原

投与第5週に、雄のARA 0mg/kg群の2例で、雌の35mg/kg群の1例で脳卒中を疑わせる症状が顕われ、以降、症状を伴う個体の数は増し、雄では投与期間中に全例で脳卒中症状が認められた。雌では異常な症状が全く認められなかった個体が、0、5、35および240mg/kg群で、それぞれ、2、2、3および1例あった。また、

雄では投与期間終了までに、0、5、35 および 240mg/kg 群で、それぞれ、3、4、1 および 2 例が死亡した。雌では、5、35 および 240mg/kg 群で、それぞれ 1 例が死亡した。体重、摂餌量に ARA 投与の影響は認められなかった。血液学および病理学的検査所見にも ARA 投与の影響は認められなかった。血液生化学では、雌の血漿中リン脂質濃度が用量に依存して低下し、240 mg/kg では対照群と比較して有意な低値を示したが、これ以外に影響は見られなかった。この実験条件下で無毒性量 (NOAEL) を求めるとすれば、雄では 240 mg/kg、雌では血漿中リン脂質濃度への影響を有害効果と考えた場合に 35 mg/kg と判断することができる。

3. ARA 補給の炎症への影響の評価・・・内藤

最終週に DSS 投与によって大腸炎を誘導すると、5 および 35 mg/kg 投与による影響はほとんど認められなかった。一方 240 mg/kg 投与によっては、大腸の粘膜下組織の浮腫、MPO 活性の上昇、マクロファージの浸潤の増加等、大腸炎が促進する可能性が示唆されたが、この用量は、ヒトの 1 日摂取目安量の約 50 倍に相当する量であった。また、正常動物においては、240 mg/kg 投与によって血漿 ARA 量増加および EPA/ ARA 比低下が認められたことから、これが生体に影響を与えるのか否かについては、さらに研究が必要と考えられる。

4. 胎児期の摂取脂肪酸が乳癌発症に及ぼす影響の評価・・・螺良

- ① 最終的に乳腺腫瘍数・腫瘍重量には群間で差は認めなかった (組織検査を含む)。
- ② 移植 2 週間後から、ARA 2.0% 添加食群の腫瘍体積は他群に比べて有意に増加し、移植 35 日後では基礎食群で 405 mm³ であったのに対し、ARA 2.01% 添加食群で 813 mm³ と有意に増加した。

5. ARA 補給食がマウス眼組織の形成に及ぼす影響・・・小林

交配 2 週間前から普通食に ARA を 4% 添加した食餌で飼育したマウスの♀胎仔 (E16.5) では、普通食のみや 4% DHA を添加した群に比べて、眼組織中のリゾリン脂質 (リゾホスファチジルコリンとリゾホスファチジルエタノールアミン) の顕著な蓄積が認められた。一方、これは♀胎仔に特徴的な現象であり、♂胎仔ではリゾリン脂質の蓄積は見られず、眼組織形体異常が♂よりも♀で顕著であることと一致していた。以上より、ARA 強化食によるマウス胎仔眼組織でのリゾリン脂質蓄積が、眼の発生や形体形成と関わっていることが示唆された。

6. 発がんプロモーション過程への影響評価・・・永田

イニシエーション処置した対照群と各 ARA 投与群間では一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査結果、生存率、担癌動物発生率に差はなかったが、器官別腫瘍発生率では膀胱の乳頭腫が対照、低、中、高用量群でそれぞれ 1、3、5、7 例と高用量群で有意に発生頻度 ($p < 0.05$) が高く、投与用量に応じて増加傾向もみられた ($p < 0.01$)。以上の結果から、本実験下において、ARA は膀胱粘膜における乳頭腫発生を促進させる作用を有することが明らかになった。

7. ラットの網膜、NK 細胞活性、骨格筋に及ぼす ARA 長期投与の影響に関する研究・・・橋本

① (老齢ラット) 13 週間投与後の網膜電図は、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。網膜電図への影響を明らかにするために投与を継続中である。ARA 投与老齢ラット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、過酸化脂質量が増加した。

②（若齢ラット）網膜電図は3群間で有意差は認められなかった。NK細胞活性は、ARA群ではコントロール群、DHA群に比べて有意に低下したことから、ARA長期投与によりラットの免疫能の低下が示唆された。

8. 老若マウスの脳機能に及ぼす ARA の比較検討・・・守口

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、若齢のn-3系脂肪酸欠乏マウスにARAを投与すると3週目から、自発運動の有意な上昇が観察された。これらのことから、ARA投与は、n-3系脂肪酸欠乏状態を亢進させて、n-3系脂肪酸欠乏特有の症状である自発運動を上昇させ、運動機能を低下させることが考えられた。

D. 考察

ARA補給が安全かを調べるために、各種動物実験を組み検討した。ヒトでの研究は、すでに終了している疫学調査あるいは介入試験で考察し、新たな介入試験は実施していない。今回の研究のためのARA油購入に時間がかかったため（前回報告）、今年度の研究には昨年度の分まで入り込んだが、十分な成果が得られた。

研究要旨にまとめたように、ARA補給でいろいろな問題が出現した。問題となりそうなものをあげると、脳内DHAの有意な低下、自発運動の亢進、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（雌）の血清中リン脂質濃度の低下、眼の発達異常が出やすいマウスでのリゾリン脂質の増加、ヒト乳癌細胞株を移植したヌードマウスではARAの用量依存的に乳癌細胞が増殖、発癌プロモーションモデルでは膀胱の乳頭腫発生が増加、NK活性の低下した、老齢ラットでは下肢骨格筋の酸化ストレスが増加、薬物誘導大腸

炎モデルラットでは炎症の亢進、健常女性の顔面のシミおよびシワがARAと相関するなど。

ARAの投与が認知症などで有効との報告もあるが、今回報告したように問題点もかなりある。利益と危険性の兼ね合いが大切であるが、この場合EPA・DHAと比較するのがよさそうである。EPA・DHAを含む魚油の投与研究はARAの千倍程度あるが、魚油の危険性を示す研究発表は極めて少ない。実質的には皆無である。その点ARAは我々が2年間研究しただけで、危険性が多岐にわたり確認された。ある状況下では、ARAの投与が有効であることもあり得るが、いろいろな危険性（特に長期投与での発がん）を考えると、ARAの補給は考えにくい。

ヒトでの投与研究は危険と考え、我々は動物での研究で話を進めた（ただし魚油の投与や疫学調査ですでに終了しているものは、ヒトでの研究も加えた）。動物実験でいつも問題となるのは投与量の問題である。小動物は、体重に比べて体表面積が大きいいため、一定体温を保とうとすれば代謝速度が早くなる。そこで、ARAも燃料として使われる可能性が極めて高く、ヒトでの体重あたりの投与量では、研究ができない。ただ、毒物として扱う場合は、安全域を広め取る必要があるため、今回の投与量は十分意味があると考えられる。

以上をまとめると、ARAはがん、炎症、自発運動量など全てにわたって、活性化させるようである。

E. 結論

ARAは、がん、炎症、自発運動上昇・運動機能低下など全てにわたって、促進的に作用する可能性が示された。動物実験で催奇性という根本的な安全性の問題が認められ、この問題が解決しない限り、一般者への補給は勧められない。

F. 健康危険情報

動物実験で乳がん細胞の増殖促進が見られた。炎症を亢進させる可能性もある。また、マウス胎仔で眼の分化・増殖障害が報告された。女性の皮膚に問題を起こす可能性がある。現時点で、発酵法で作られたARA油の安全性に問題があり、一般者に補給することは不適切であると指摘できる。

G. 研究発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

II. 分担研究報告

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） 分担研究報告書

「アラキドン酸補給の安全性に関する研究（疫学調査の部分）」

研究代表者・分担者 浜崎 智仁 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

研究要旨

すでに終了したヒトでの調査二つを再検討することにした。132名（20-60歳、健常女性）につき、血清中のアラキドン酸（ARA）とロボスキン・アナライザーによる皮膚の状況について相関を検討した。次に健常人456名での疫学調査を見直し、ARAと他の脂肪酸の関連を調べた。皮膚との関連では、額以外の部位でシミの程度とARAに正の相関が見られた（ $r=0.24$, $p=0.006$, 各種補正後）。30歳代に限れば、シワの長さもARAに強い正の相関が見られた（ $r=0.47$, $p=0.006$, $n=30$, 補正後）。456名での疫学調査では、赤血球中のEPAとARAに強い負の相関があり（ $r=0.27$, 年齢・性別補正後）、DHAとARAには正の相関が見られた（ $r=0.23$, 同じく補正後）。

A. 研究目的

ARAは総括研究報告書の「研究目的」にもあるように、過剰にあることで炎症が進む可能性がある。炎症が強くなれば、顔面の皮膚にも影響が出る可能性がある。そこで、デジタルカメラにより顔面を撮影し、シワあるいはシミと血清中リン脂質の脂肪酸構成との関連を調べた。次にすでに終了している456名での疫学調査を再検討して、ARAがEPAあるいはDHAといかなる相関が有るかを検討した。この検討は鈴木分担研究者の結果より、ARAに対するEPAとDHAの影響が異なることにヒントを得て行った。

B. 研究方法

1) 皮膚とARAとの関連

20から60歳までの健常女性132名に参加してもらった（20代=35、30代=30、40代=36、50代と60歳=31）。朝8時に検査場所にて洗顔してもらい、Robo Skin Analyzer（MM&Niic社、東京）にて顔面を撮影し、シワの長さ、シ

ミの大きさなどを画像処理した。赤血球リン脂質の脂肪酸構成は、ガスクロマトグラフィー法にて測定した。なお、この研究は当研究班とは無関係に行われ、すでに終了した調査の再検討である。研究そのものは倫理委員会の承認を受けている。

2) 疫学調査から見た脂肪酸の相関

この研究はすでに終了した4つの介入試験の前値を利用したものである（in vivo 2008; 22: 131-136）。456名の健常男女（男320名、女136名、20-70歳）の赤血球リン脂質の脂肪酸構成を、ガスクロマトグラフィー法にて測定した。なお、4つの介入試験は、この研究を開始するとき、いずれも終了しており、倫理委員会の承認も受けている。

C. 研究結果

1) 皮膚とARAとの関連

脂肪酸と皮膚の状態との相関では、二つの有意差のある相関が見られた。一つは、ARAとシミ総面積（前額部以外の顔面）との正相関であ

る。(r=0.24, p=0.006, n=132、年齢、飲酒、喫煙で補整)。もう一つは、30歳代に限った場合だが、ARAと目尻のシワの長さに強い正相関(r=0.47, p=0.006, n=30、同じく補整)が見られた(投稿中)。

2) 疫学調査から見た脂肪酸の相関

赤血球のARAとEPAには強い負の相関があった(r=0.27、図1、年齢と性別で補整)。ARAとDHAには逆に正相関が見られた(r=0.23、図2、同様に補整)。

D. 考察

1) 疾患ではないが、女性にとっては顔面のシミとシワは特に重要な問題である。この研究は介入試験ではないので、因果関係は証明できないが、ARAが炎症を亢進させる可能性を考えれば、過剰なARAの存在は女性の肌にとって敵といえそうだ。日本で開発されたRobo Skinの歴史はまだ浅く、脂肪酸との関連はまだ報告されていない。この研究はARAを上手に制御することで、女性の美しい皮膚を保つ可能性を示し、重要な基礎データとなる。男性でも同様なことが言えるかはまだ分からない。

2) 鈴木分担研究員のデータでは、EPAの多い魚油では血中ARAが低下し、DHAが多い魚油では逆にARAが上昇する傾向がある。今回のすでに終了した疫学研究の再調査はその傾向を完全に裏付けることになった。EPAとARAは分子構造が非常に似ているため、互いに競合するが、DHAは構造が多少異なるため、競合阻害が少ないと考えられる。そこでEPAとARAの逆相関は簡単に想像できる。一方DHAとARAとの正相関は、魚食というパラメーターを考えると理解しやすいかも知れない。EPA・DHAほどではないが、魚油にはARAが比較的多く含まれており、魚の摂取量が多い人ではARAの摂取量も多くなる。そこでDHAとARAの相関はどの程度魚を食べているかの指標となり、両者が相関するものと考えられる。組織中のARAを低下させようとす

るなら、EPAの摂取量を増やすことが重要となりそうだ。

E. 結論

女性の顔面のシミとシワは組織のARA濃度と相関する。血中ARAはEPA濃度と逆相関、DHAと正相関がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

図 1

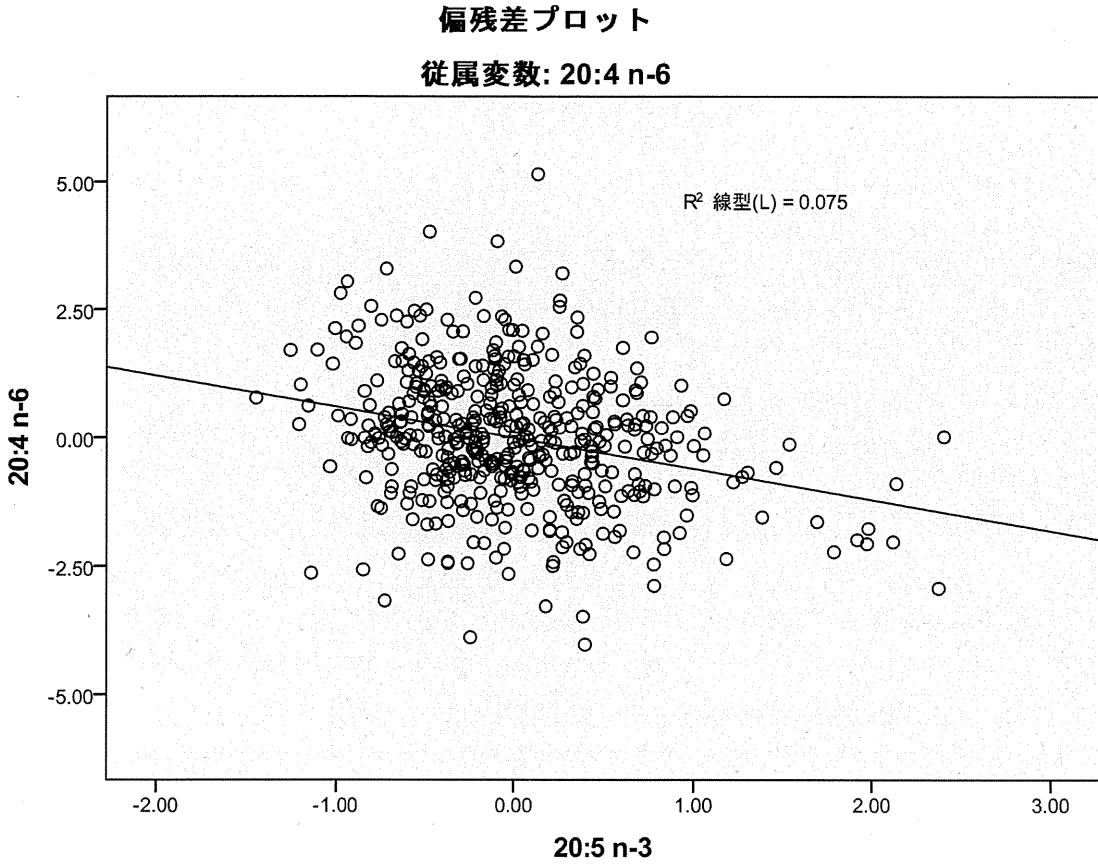
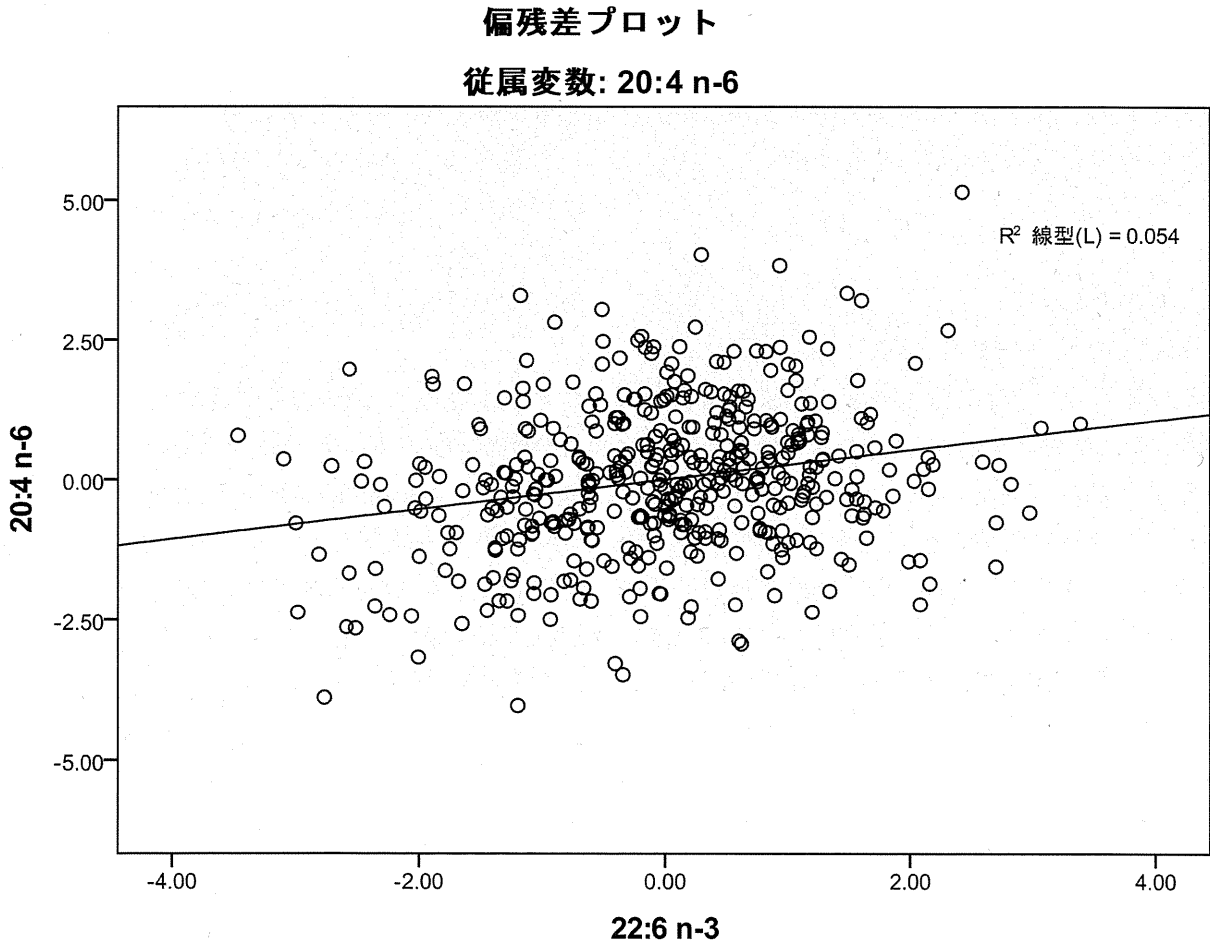


図 2



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） 分担研究報告書

我国の中高年及び高齢者の食生活と血液中のアラキドン酸等多価不飽和脂肪酸
の割合について

研究分担者 鈴木 平光 女子栄養大学 教授

研究協力者 山田 麻未 女子栄養大学 大学院生

研究要旨

中高年及び高齢者の血漿脂質に占めるアラキドン酸(ARA)の割合は、4.8～5.9%の範囲にあった。DHAの多い魚油の摂取はアラキドン酸を増加させ、EPAの多い魚油は減少させる傾向にあった。なお、この時、魚油摂取の影響は、1.0%以内であった。

A. 研究目的

昨年（平成22年）度の研究では、我国の女子学生及び中高年女性の食生活と血液中のアラキドン酸（ARA）等の多価不飽和脂肪酸の割合との関連を報告した。そこで、今年度は、我国の中高年及び高齢者の食生活と血液中のARAなどの多価不飽和脂肪酸の割合を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 介入試験1. 事業所に勤務する中高年における血漿脂質中のARA等の割合に及ぼす精製魚油カプセル摂取の影響について⁽¹⁾

被験者の募集は東京都内の事業所にて行なった。被験者全員に食事記録や体調の変化などについて試験終了前の1週間調査した。魚油（DHA）含有カプセル摂取群の被験者（24名）には1日15粒の魚油カプセル（DHAを729mg含有）を3ヵ月間与えた。また、プラセボ群の被験者（21名）には、魚油の代わりにサフラワー油が入ったカプセルを同様に与えた。摂取前及び1.5、3ヵ月目に血漿脂質中の脂肪酸組成などの測定を行なった。なお、本研

究は女子栄養大学医学倫理委員会の承認を得た後、二重盲検法にて実施した。

2) 介入試験2. 事業所に勤務する中高年における血漿脂質中のARA等の割合に及ぼす精製魚油含有ドリンク摂取の影響について⁽²⁾

介入試験1と同様に実施したが、魚油含有ドリンク摂取群の被験者（24名）には1日100mlのドリンク（EPAを600mg含有）を3ヵ月間与えた。また、プラセボドリンクとしては、魚油に代わりにオリーブ油が入ったものを用いた。

3) 介入試験3. S市役所に勤務する中高年の血漿脂質中のARA等の割合に及ぼす魚油含有ヨーグルトの摂取の影響について⁽³⁾

被験者の募集は埼玉県S市役所にて行なった。被験者全員に食事記録や体調変化などの日誌を、試験開始3ヵ月目と6ヵ月目の前に、それぞれ1週間分記入してもらった。魚油含有（DHAリッチ）ヨーグルト摂取群の被験者（32名）には1日100gのDHAヨーグルト（DHAを600mg含有）を3ヵ月間与えた。また、プラセボ群の被験者（32名）には、魚油の代わりにサフラワー油を含むヨーグルトを同様に与

えた。本研究はクロスオーバー法で実施したため、全員がそれぞれのヨーグルトを3ヵ月間摂取した。また、摂取前及び1.5、3、4.5、6ヵ月目に血漿脂質中の脂肪酸組成などの測定を行なった。なお、本研究は女子栄養大学医学倫理委員会の承認を得た後、二重盲検法にて実施した。

4) 介入試験4. 高齢者の血漿脂質中のARA等の割合に及ぼす魚油及び緑茶抽出物含有食品の摂取の影響について⁽⁴⁾

被験者の募集は特別養護老人ホームで行なった。魚油+緑茶抽出物強化食品摂取(以下試験)群の者には、1日あたり3g(DHAを700mg含有)の魚油と0.5g(約80%カテキン含有)の緑茶抽出物を添加した加工食品(約30品)を6ヵ月間与えた。また、プラセボ群の者には、魚油の代わりにサフラワー油を、緑茶抽出物の代わりに小麦デンプンを含む加工食品を同様にして与えた。摂取前、3ヵ月後、6ヵ月後に改訂長谷川式簡易知能評価スケールを用いた検査を行うと同時に採血し血漿を得た。この血漿脂質中の脂肪酸組成を測定した。なお、本研究は農研機構食品総合研究所ヒト試験に関する倫理委員会の承認を得た後、二重盲検法により実施した。

5) 介入研究5. 高齢者の血漿脂質中のARA等の割合に及ぼす魚油含有ヨーグルト摂取の影響について⁽⁵⁾

被験者の募集は特別養護老人ホームで行なった。魚油添加によるDHA含有ヨーグルト摂取(以下DHAヨーグルト)群の者には、1日あたり100gのDHAヨーグルト(DHAを600mg含有)を6ヵ月間与えた。また、プラセボ群の者には、魚油の代わりにサフラワー油を含むヨーグルトを同様にして与えた。被験者においては、摂取前、3ヵ月後、6ヵ月後に採血し血漿を得た。この血漿脂質中の脂肪酸組成を測定した。なお、本研究は農研機構食品総合研究所ヒト試験に関する倫理委員会の承認を得た後、二重盲検法により実施した。

(倫理面への配慮)

上記のすべての試験研究においては、それぞれの倫理委員会で、実験研究の実実施計画、個人の人権の擁護、社会的影響、同意書、個人および社会への不利益や危険性、学術上の貢献の予測、利益相反について審議し、承認を得た後、実施した。

C. 研究結果

1) 介入試験1: 食事調査から、魚油(DHAリッチ)カプセル群もプラセボカプセル群もともに、食生活に大きな特徴をもったものは見られなかった。しかし、魚介類は週 6.6 ± 2.7 回、食肉類は週 5.3 ± 2.5 回の頻度で摂取しており、肉より魚を食べる習慣が多い傾向にあった。魚油カプセル群のヒトでは、摂取3ヵ月後にARA $5.7 \pm 1.4\%$ ($P < 0.05$)、EPA $3.6 \pm 1.6\%$ ($P < 0.05$)、DHA $6.2 \pm 1.3\%$ ($P < 0.01$)となり、有意に高い値を示した(表1)。

2) 介入試験2: 介入試験1の結果と同様に、魚油(EPAリッチ)ドリンク群もプラセボドリンク群もともに、食生活に大きな特徴をもったものは見られなかった。しかし、魚介類は週 8.3 ± 4.2 回、食肉類は週 5.1 ± 2.7 回の頻度で摂取しており、肉より魚を食べる習慣を持っていた。魚油ドリンク群のヒトでは、摂取3ヵ月後にARA($4.2 \pm 1.2\%$, $P < 0.05$)は減少し、EPA($3.9 \pm 1.8\%$, $P < 0.05$)は有意に高い値を示した(表2)。

3) 介入試験3: 食事調査結果から、両群ともに、魚介類は週 5.8 ± 3.2 回、食肉類は週 9.6 ± 2.8 回の頻度で摂取しており、魚より肉を食べる習慣を持っていた。血漿脂質中の多価不飽和脂肪酸組成について、DHAヨーグルトの摂取期間の前後を比較した時に、血漿脂質中のARAには影響が見られなかったが、EPA($2.2 \pm 1.1\%$, $P < 0.01$)及びDHA(4.5 ± 1.1 , $P < 0.05$)が有意に上昇する傾向が見られた(表3)。

4) 介入試験4: 6ヵ月後の血漿脂質中の多価不飽和脂肪酸組成においては、プラセボ群と比較して、試験群においてARA($5.8 \pm 0.8\%$, P

< 0.05)、EPA (3.8 ± 0.9%、P < 0.05) 及び DHA (5.6 ± 0.7%、P < 0.05) が有意に高い値を示した。また、試験群で n-3/n-6 が上昇する傾向が見られた (表 4)。

5) 介入試験 5 : 6 ヶ月後の血漿脂質中の多価不飽和脂肪酸組成においては、魚油含有 (DHA リッチ) ヨーグルトを摂取した群で、ARA (6.2 ± 0.2%、P < 0.05)、EPA (3.7 ± 0.2%、P < 0.05) 及び DHA (5.9 ± 0.3%、P < 0.05) が有意に高い値を示した。また、魚油含有ヨーグルト群で n-3/n-6 が上昇する傾向が見られた (表 5)。

D. 考察

1) 介入試験 1 において、魚油が入ったカプセルを 1 日 15 粒 (DHA を 729mg) 摂取することで、血漿脂質中の ARA、EPA、DHA などの多価不飽和脂肪酸の割合が上昇することが認められた。魚油中には ARA が若干含まれていることなどが影響して、魚油カプセル群において、ARA の割合が 0.9% 程度上昇したと思われる。

2) 介入試験 2 において、魚油を配合し EPA を 600mg 摂取できるようにしたドリンク 100ml を 1 日 1 回摂取することで、血漿脂質中の EPA が上昇し、ARA が 0.6% 程度低下することが認められた。このことは、DHA リッチな魚油では ARA の割合が増えるのとは逆の結果である。今後は、更に詳細に DHA リッチの魚油または EPA リッチの魚油を摂取した時の ARA レベルに及ぼす影響も検討する必要があると思われる。

3) 介入研究 3 において、魚油を配合し DHA を 600mg 摂取できるようにしたヨーグルトを 1 日 1 回 (100g) 摂取することで、血漿脂質中の EPA、DHA などの多価不飽和脂肪酸を上昇させることが認められた。本研究では、リノール酸や ARA の血漿脂質中の割合には大きな違いは見られなかったが、被験者の肉類の摂取頻度は魚介類の 1.6 倍高かった。このように欧米化された食生活は生活習慣病を招く可能性があ

り、普段の食事で EPA や DHA を十分摂取する必要があると思われる。

4) 介入試験 4 において、高齢者が魚油 (DHA リッチ) 及び緑茶抽出物含有食品を 6 ヶ月間摂取することで、血漿脂質中の ARA、EPA、DHA などの割合を増加することが認められた。この試験結果においても、魚油中に含まれる ARA の影響等により、血漿脂質中の ARA のレベルが 0.4% 程度上昇したと思われる。また、魚油には n-3 系脂肪酸が多く含まれるため、n-3/n-6 も上昇する傾向が見られたと考えられる。

5) 介入試験 5 において、高齢者が魚油 (DHA リッチ) 含有ヨーグルトを 1 日 1 回摂取することで、血漿脂質中の ARA、EPA、DHA などの多価不飽和脂肪酸の割合を上昇させることが認められた。この場合も、介入試験 4 と同様に考えられる。

E. 結論

1. 中高年及び高齢者の血漿脂質に占める ARA の割合は、4.8 ~ 5.9% の範囲にあったが、これには日々の食生活が影響している可能性がある。

2. 通常摂取量とほぼ同量の魚油を 3 ~ 6 ヶ月間強化する事で、血漿脂質中の ARA の割合が変化することが認められた。しかし、DHA が多い魚油と EPA が多い魚油では影響が異なり、DHA は ARA を増加させ、EPA は減少させる傾向にあった。なお、この時、魚油摂取の影響は、1.0% 以内であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 鈴木平光、ボインドグルン・金花、西塔正孝、樋口智之、白井展也、“中高年の血漿成分に及ぼす DHA 含有精製魚油摂取の影響”. 脂質栄養学、Vol.19、No.2、p197 (2010).

2)山田麻未、ボインドグルン・金花、西塔正孝、白井展也、鈴木平光、“中高年の血漿成分に及ぼす魚油含有ドリンク摂取の影響”. 脂質栄養学、Vol.20、No.2、p134 (2011).

3)山田麻未、ボインドグルン・金花、西塔正孝、鈴木平光、樋口智之、白井展也、他、“坂戸市役所職員のメタボリックシンドローム危険因子に及ぼす DHA 含有ヨーグルト摂取の影響”. 脂質栄養学、Vol.20、No.2、p163 (2011).

4)鈴木平光、樋口智之、西塔正孝、白井展也、土橋裕美子、森川洋一、“高齢者の知的機能に

及ぼす魚油及び緑茶抽出物含有食品摂取の影響：特別養護老人ホームにおける6ヵ月の試験結果”. 脂質栄養学、Vol.15、No.2、p160 (2006).

5)鈴木平光、樋口智之、西塔正孝、白井展也、土橋裕美子、森川洋一、他、“高齢者の知的機能に及ぼす DHA 含有ヨーグルト摂取の影響：特別養護老人ホームにおける6ヵ月の試験結果”. 脂質栄養学、Vol.16、No.2、p156 (2007).

表1 事業所に勤務する中高年における血漿脂質中のアラキドン酸等の割合に及ぼす精製魚油カプセル摂取の影響(%)

		n-6		n-3	
		18:2	20:4	20:5	22:6
魚油カプセル群	摂取前	24.0±4.3	4.8±1.4	2.7±1.0	4.7±1.0
	3ヵ月後	23.6±2.9	5.7±1.4*	3.6±1.6*	6.2±1.3**、##
プラセボカプセル群	摂取前	24.2±3.3	5.2±1.4	2.6±1.4	5.4±2.0
	3ヵ月後	24.4±4.0	5.1±1.5	2.8±1.3	4.9±1.3

(student-t テスト、平均値±SD、摂取前後の比較、*:P<0.05、**:P<0.01、プラセボ群との比較、#:P<0.05、##:P<0.01)

表2 事業所に勤務する中高年における血漿脂質中のアラキドン酸等の割合に及ぼす精製魚油含有ドリンク摂取の影響(%)

		n-6		n-3	
		18:2	20:4	20:5	22:6
魚油含有ドリンク群	摂取前	22.0±3.2#	4.8±1.1	2.4±1.4	4.8±1.2
	3ヵ月後	21.5±4.1	4.2±1.2#	3.9±1.8**、#	4.8±1.3
プラセボドリンク群	摂取前	24.2±3.3	5.3±1.3	2.7±1.6	5.0±1.5
	3ヵ月後	23.1±3.2	5.0±1.1	2.8±1.4	4.6±1.1

(student-t テスト、平均値±SD、摂取前後の比較、*:P<0.05、**:P<0.01、プラセボ群との比較、#:P<0.05、##:P<0.01)

表3 S市役所に勤務する中高年の血漿脂質中のアラキドン酸等の割合に及ぼす魚油含有ヨーグルトの摂取の影響(%)

		n-6		n-3	
		18:2	20:4	20:5	22:6
魚油含有 ヨーグルト群	摂取前	26.5±6.6	5.4±1.4	1.5±1.0	3.9±1.8
	3か月後	25.7±3.3	5.3±1.3	2.2±1.1**	4.5±1.1*
プラセボヨー グルト群	摂取前	26.5±6.6	5.4±1.4	1.5±1.0	3.9±1.8
	3か月後	24.8±5.4	5.3±0.8	1.8±1.0	4.1±1.3

(student-t テスト、平均値±SD、摂取前後の比較、*:P<0.05、**:P<0.01
プラセボ群との比較、#:P<0.05、##:P<0.01)

表4 高齢者の血漿脂質中のアラキドン酸等の割合に及ぼす魚油及び緑茶抽出物含有食品の摂取の影響(%)

		n-6		n-3		n-3/n-6
		18:2	20:4	20:5	22:6	
魚油+緑茶抽出 物含有食品群	摂取前	26.3±2.4	5.4±0.8	2.4±0.9	3.4±0.6	0.2±0.1
	6か月後	25.7±1.6	5.8±0.8#	3.8±0.9#	5.6±0.7#	0.3±0.0
プラセボ 食品群	摂取前	26.6±2.1	5.3±0.7	2.6±0.5	3.6±0.6	0.2±0.0
	6か月後	26.0±2.9	4.9±1.0	2.6±0.5	4.5±0.6	0.2±0.1

(student-t テスト、平均値±SD、プラセボ群との比較、#:P<0.05)

表5 高齢者の血漿脂質中のアラキドン酸等の割合に及ぼす魚油含有ヨーグルト摂取の影響(%)

		n-6		n-3		n-3/n-6
		18:2	20:4	20:5	22:6	
魚油含有 ヨーグルト群	摂取前	25.8±0.7	5.9±0.2	2.4±0.2	4.6±0.2	0.25
	6か月後	24.8±0.6	6.2±0.2#	3.7±0.2#	5.9±0.3#	0.35
プラセボ ヨーグルト群	摂取前	27.4±0.8	5.8±0.2	2.3±0.2	4.5±0.2	0.24
	6か月後	26.7±0.7	5.5±0.2	2.6±0.2	4.5±0.2	0.26

(student-t テスト、平均値±SE、プラセボ群との比較、#:P<0.05)

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業） 分担研究報告書

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）を用いるアラキドン酸の
病態進行に対する影響の検討

分担研究者 大原 直樹 金城学院大学薬学部教授
研究協力者 内藤由紀子 国立循環器病研究センター研究所 病態ゲノム医学部 室長
立花 滋博 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 試験部

研究要旨

アラキドン酸（ARA）投与が炎症性病態（高血圧、血管傷害、脳出血等）を増悪するか否かを評価する目的で、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）を用いた13週間（90日間）反復投与毒性試験を実施した。雌雄それぞれ32匹のSHRSPを1群8匹からなる4群に分け、ARA 0、5、35および240mg/kgに該当するARA含有油を1日1回強制経口投与した。ARA含有サプリメントに目安として設定されている1日摂取量（ARAで240mg）と体重当たりの換算でほぼ同量を低用量、その約50倍を高用量とし、公比7で中用量群を設けた。投与第5週に、雄のARA 0mg/kg群の2例で、雌の35mg/kg群の1例で脳卒中を疑わせる症状が顕われ、以降、症状を伴う個体の数は増し、雄では投与期間中に全例で脳卒中症状が認められた。雌では異常な症状が全く認められなかった個体が、0、5、35および240mg/kg群で、それぞれ、2、2、3および1例あった。また、雄では投与期間終了までに、0、5、35および240mg/kg群で、それぞれ、3、4、1および2例が死亡した。雌では、5、35および240mg/kg群で、それぞれ1例が死亡した。体重、摂餌量にARA投与の影響は認められなかった。血液学および病理学的検査所見にもARA投与の影響は認められなかった。血液生化学では、雌の血漿中リン脂質濃度が用量に依存して低下し、240mg/kgでは対照群と比較して有意な低値を示したが、これ以外に影響は見られなかった。この実験条件下で無毒性量を求めるとすれば、雄では240mg/kg、雌では血漿中リン脂質濃度への影響を有害効果と考えた場合に35mg/kgと判断することができる。

A. 研究目的

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）を用いた13週間（90日間）反復投与毒性試験を実施し、アラキドン酸（ARA）投与がSHRSPにおける炎症性病態（高血圧、血管傷害、脳出血等）を増悪するか否かを評価した。

B. 研究方法

雌雄それぞれ32匹のSHRSPを1群8匹からなる4群に分け、ARA 0、5、35および240mg/kgに相当するARA含有油を1日1回、90日間経口投与した。ARA含有サプリメント

の目安として設定されている1日摂取量（ARAとして240mg）とほぼ同量を低用量（5mg/kg）、その約50倍を高用量（240mg/kg）とし、公比約7で中用量（35mg/kg）を設定した。

1) 一般状態の観察

投与期間中は、毎日、投与前後に一般状態を観察した。特に、脳卒中による症状の変化に留意した。

2) 体重測定

投与初日に体重を測定し、以後、投与期間終了時まで毎週1回の頻度で投与前の体重を測定