

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

ニュートリゲノミクス解析に基づく
機能性食用油の安全性に関する研究

(H 24 - 食品 - 一般 - 004)

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 内藤 由紀子

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- ニュートリゲノミクス解析に基づく機能性食用油の安全性に関する研究 1
内藤 由紀子

II. 分担研究報告

- 機能性食用油の安全性に関する研究 7
内藤 由紀子、岩井 直温

- 食用油摂取がステロイドホルモン代謝に及ぼす影響 46
大原 直樹、内藤 由紀子

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 61

- IV. 研究成果の刊行物・別刷 63

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

ニュートリゲノミクス解析に基づく機能性食用油の安全性に関する研究

研究代表者 内藤 由紀子 独立行政法人国立循環器病研究センター・
病態ゲノム医学部・室長

研究要旨

本研究は、特定保健用食品（トクホ）の植物油全 3 品目の有効性、安全性について解析評価するものである。それぞれ、生活習慣病モデル動物およびその起源動物（正常動物）に植物油を摂取させ、生活習慣病患者あるいは予備軍のヒトの食生活指導、健常者への予防指導のための情報源を得ることを目的とした。本研究の 1 年目である今年度（平成 24 年度）は、脳卒中モデルラットを用いた。

SHRSP および WKY ラットにトクホの植物油 3 種（HR、HC および KS）を 7w/w% 含有する飼料を 4 週間摂取させたところ、これまでに得られた結果からは顕著な有害作用が認められないことが明らかとなった。また、WKY ラットと比較して、動脈硬化の危険度を表す動脈硬化指数（AI）が高い SHRSP に HC を摂取させると、AI 値が低値となることがわかった。一方、SHRSP で認められた HC および KS 摂取第 3 週以降の拡張期・平均血圧の上昇、相対肝臓重量の増加、精巣ステロイドホルモン代謝への影響等に関しては、現在進行中の病理組織検査およびトランスクリプトーム解析の結果と合わせて次年度にまとめる。

岩井 直温・独立行政法人国立循環
器病研究センター・部長
大原 直樹・金城学院大学薬学部・
教授

指導、健常者への予防指導のための情報源を得ることを目的とした。

本研究で用いる解析手法のニュートリゲノミクスは、栄養素や食品を摂取した時に起こる遺伝子発現などを網羅的に調べることにより、食品の機能性や安全性を特定するポストゲノムの科学である。これを栄養関連疾病への危険性の予測にも活用するのが本研究の目標である。食品の機能性研究には多く取り入れられている一方、安全性においては比較的新しい手法

A. 研究目的

本研究は、トクホの植物油全 3 品目の有効性、安全性について解析評価するものである。生活習慣病モデル動物およびその起源動物（正常動物）にこれらの植物油を摂取させ、生活習慣病患者あるいは予備軍のヒトの食生活

であることから、本研究によって、安全性研究における新しい解析手法の可能性を見出す。将来は、SNP（一塩基多型）を考慮した、食生活における個の予防医療にも貢献できる可能性があるため、活用が望まれている分野である。

現在トクホの植物油は3品目ある。すなわちヘルシーリセッタ（HR、日清オイリオグループ、東京）、ヘルシーコレステ（HC、日清オイリオグループ）および健康サララ（KS、味の素、東京）である。HRには「身体に脂肪が付きにくい」、HCおよびKSには「コレステロールが高めの方に適する」と表示されている。血中脂質や体脂肪は生活習慣病の発症に大きく関与し、国民の生活習慣病への関心の高さから考えても、これらの植物油の安全性や有効性を評価することは重要である。また、本研究計画のような第三者による同条件下での評価も、国民の安全な食生活の確保に貢献すると考える。

なお、トクホの植物油3品目を同条件下で安全性・有効性を調査する解析研究もニュートリゲノミクスに基づく研究も、国内外で報告されていない。

カノーラ油は国内消費量第一位で、心保護作用が期待できるオレイン酸が豊富な食用油である一方、摂取による脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）の寿命短縮が報告されている。研究代表者らは、この背景メカニズムについての研究を行っているが、これまでに、血圧上昇、血漿脂質上昇や心・腎傷害促進が寿命短縮に関

与している可能性があること等を報告している。

本研究は、この食用植物油の研究をバックグラウンドとし、トクホの植物油の安全性、有効性を評価する。最終目標は、健康的な生活を送るための食用油摂取に関する食習慣の提案であることから、本研究は、最終的に必要となるヒトを対象とした研究につながる研究となる。

平成24年度は生活習慣病の中から脳卒中に注目し、SHRSPおよび正常血圧Wistar-Kyoto（WKY）ラットを用いた。

B. 研究方法

1. 機能性食用油の安全性に関する研究

トクホの植物油であるHR、HCおよびKSを用いた。HRは中鎖脂肪酸強化、HCおよびKSは植物ステロール強化植物油である。これらを、AIN93G精製粉末飼料の脂肪源である大豆油（7w/w%含有）と置き換える配合の飼料を準備するために、AIN93G無脂肪精製粉末飼料に、7w/w%HR、HCまたはKSを添加した特殊飼料を調製した（オリエンタル酵母工業、東京、それぞれHR、HCまたはKS飼料）。また対照（Cont）飼料としてAIN93G精製飼料を用いた。各飼料の脂肪酸組成およびステロール類含量をガスクロマトグラフ法で測定した。

雄性SHRSPおよびWKYラット各24匹（6週齢）を用いた。1週間の検疫・馴化後、収縮期血圧および体重をもと

に各系統とも 1 群 6 匹 4 群に分けた。それぞれ Cont 群、HR 群、HC 群および KS 群とし、Cont 飼料、HR 飼料、HC 飼料または KS 飼料を 4 週間自由摂取させた。摂取期間中は体重、血圧測定、尿検査を行い、摂取期間終了後は、剖検、血液生化学検査、トランスクリプトーム解析（進行中）を行った。

2. 食用油摂取がステロイドホルモン代謝に及ぼす影響

1. の研究の解剖時に採取し、凍結保存した SHRSP の精巣をサンプルとして行った。リン酸緩衝液中に分散させた組織ホモジネートからステロイド類をエーテル抽出し、常法に従い精製した。サンプル中のステロイド（プレグネノロン、アンドロステンジオンおよびテストステロン）を LC-MS/MS (API-4000) で同定した。

（倫理面への配慮）

「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、科発第 0601001 号）」を遵守し、研究開始前に「国立循環器病研究センター動物実験実施規定」に基づく研究計画書を作成し、同実験管理委員会による審査が行われ、実験動物に対する動物愛護上の配慮等、倫理的配慮が適正であることが同総長により承認されている。

C. 研究結果

1. 調製飼料の分析

中鎖脂肪酸を強化した HR を添加した飼料では、Cont 飼料には含まれない中鎖脂肪酸であるカプリル酸およびカプリン酸が含まれていた（それぞれ 8.4 および 2.8%）。また HR および HC 飼料では、オレイン酸の割合が高く、リノール酸の割合は低かった。

植物ステロールを強化した植物油である HC および KS を添加した飼料では、どちらも主に β -シトステロールが多かった。以下、HC 飼料では、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロールの順に、KS 飼料では、カンペステロール、スチグマステロール、7-スチグマステノールの順に多く含まれていた。総植物ステロール量は、HC 飼料が最も多く、次いで KS 飼料であり、植物油メーカーの表示含量をもとにした計算値と近い値であった。また、HR は植物ステロール強化を謳っていないが、HR 飼料中の総植物ステロール量は、Cont 飼料中の約 2 倍量であった。

2. SHRSP における影響

4 週間の摂取期間中、全動物の一般状態に異常はなく、体重および摂餌量に群間差は認められなかった。収縮期血圧および心拍数にはトクホ植物油摂取の影響は認められなかったが、HC および KS 群の摂取第 3 および 4 週の拡張期および平均血圧は、Cont 群と比較して高値を示した。トリグリセリドおよびグルコースレベルにはトクホ植物油摂取による影響は認められな

かったが、血漿総コレステロールレベルは、対照群と比較して HR、HC および KS 群において有意に高かった。これは HDL コレステロール増加によるものであった。また、動脈硬化指数 (AI) は HC 群でのみ低値を示した。尿検査において、尿量および尿比重にはトクホ植物油摂取の影響は認められなかった。HC および KS 群の相対肝臓重量と、KS 群の相対心臓重量は、対照群と比較して重かった。トランスクリプトーム解析では、Cont 群と比較して、発現が 4 倍以上減少した遺伝子数は、HR、HC および KS 群でそれぞれ 18、15 および 60 であった。一方増加した遺伝子数はそれぞれ 4、1 および 2 であった。現在詳細な解析を進めている。

3. WKY ラットにおける影響

4 週間の摂取期間中、全動物の一般状態に異常はなく、体重、摂餌量、血圧および心拍数に群間差は認められなかった。血液生化学検査および尿検査では、トクホ植物油摂取による影響は認められなかった。HR および HC 群の相対肝臓重量は、対照群と比較して重かった。トランスクリプトーム解析では、Cont 群と比較して発現が 4 倍以上増加または減少した遺伝子数には群間差が認められなかった。現在詳細な解析を進めている。

4. SHRSP 精巣のステロイドホルモン代謝

HC 群のプレグネノロンは、Cont 群と比較して上昇した。また HR 群および KS 群でもプレグネノロンの上昇傾向が認められた。さらにこれら 3 群と

も、アンドロステンジオンおよびテストステロン濃度は上昇傾向を示した。

D. 考察

トクホの植物油を 4 週間 SHRSP および WKY ラットに自由摂取させると、一般状態を悪化させるような作用はないことがわかった。

「身体に脂肪がつきにくい」HR を添加した HR 飼料の摂取は、SHRSP および WKY ラットにおいて体重および内臓脂肪 (精巣周囲) に影響を与えなかった。これらに対する影響を調べるには摂取期間延長や高脂肪食負荷を与える等の条件を変えることが必要かもしれないが、肥満状態ではない動物の体重を減少させる等の有害作用は無いことが本研究によって明らかとなった。

「コレステロールが高めの方に適する」HC または KS を添加した HC 飼料または KS 飼料の摂取は、SHRSP で HDL コレステロールレベル上昇と、それに伴う総コレステロールレベルの上昇を誘導した。SHRSP は WKY ラットと比較しコレステロール値が低い、AI は高かった。この動脈硬化の危険度を示す AI は、SHRSP の HC 群では、Cont 群と比較して低値を示した。このことから、HC 摂取は、動脈硬化の危険度を低減させる作用を有することが示唆された。一方 KS 群の AI 値は Cont 群と差が認められなかったことから、本研究条件下では HC 摂取でみられた効果はないと考えられた。この違いは、植物ステロール含量の多少と関連す

る可能性があるが、明らかにするためにはさらに検討が必要である。

SHRSP の HC および KS 群の摂取第 3 および 4 週の拡張期および平均血圧が高くなることが明らかとなった。KS 群の心重量が増加したこととの関連は、現在行っている解析結果とあわせて考察する予定である。

SHRSP の HC および KS 群、WKY ラットの HR および HC 群では、相対肝臓重量が増加した。進行中の病理組織検査の結果が重要であると思われる。これと合わせて考察する予定である。

ステロイドホルモン代謝に関して、明らかな結果は得られなかったが、測定した 3 種類のホルモンは、トクホ植物油群でいずれも上昇または上昇傾向を示した。血漿コレステロールレベルの上昇との関連、血圧への影響とともに次年度考察する。

トランスクリプトーム解析は現在進行中であるが、Cont 群と比較したトクホ植物油摂取群における遺伝子発現の変動は、WKY ラットよりも SHRSP でより多いことがわかった。パスウェイ解析等により詳細に調べる予定である。

E. 結論

SHRSP および WKY ラットにトクホの植物油 3 種 (HR、HC および KS) を 7w/w% 含有する飼料を 4 週間摂取させたところ、これまでに得られた結果からは顕著な有害作用が認められないことが明らかとなった。また、WKY ラットと比較して、動脈硬化の危険度を表す AI

値が高い SHRSP に対して HC を摂取させると、AI 値が低くなることがわかった。一方、SHRSP で認められた HC および KS 摂取第 3 週以降の拡張期・平均血圧の上昇、相対肝臓重量の増加、精巢ステロイドホルモン代謝への影響等に関しては、現在進行中の病理組織検査およびトランスクリプトーム解析の結果と合わせて次年度にまとめる。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Xu Ji, Yukiko Naito, Huachun Weng, Kosuke Endo, Xiao Ma, Naoharu Iwai. P2X7 deficiency attenuates hypertension and renal injury in deoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 303: F1207-F1215, 2012.

2. 学会発表

1) 小野田早恵、内藤由紀子、立花滋博、河村さやか、大原直樹、吉川真衣、新美まどか、川口真帆、宮澤大介、安井裕子、山田和代、奥山治美：菜種（カノーラ）油摂取が脳卒中易発症 高血圧自然発症ラット（SHRSP）の病態悪化を促進する機序、第 39 回日本毒性学会学術年会、2012. 7. 17-19、仙台、要旨集 P121.

2) 内藤由紀子、遠藤恒介、紀旭、馬嘯、立花滋博、安藤栄里子、青木聡子、

永田伴子、宮澤大介、岩井直温：DSS誘導ラット大腸炎に対するアラキドン酸補給の影響、日本脂質栄養学会第21回大会、2012.9.7-9.8、相模原、Journal of Lipid Nutrition 21, No. 2, 205.

3) 立花滋博、鈴木絵梨、西谷清華、斉藤義明、臼見憲司、永田伴子、内藤由紀子、大原直樹、宮澤大介、奥山治美：アラキドン酸摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSP) の病態進行に及ぼす影響の検討、日本脂質栄養学会第21回大会、2012.9.7-9.8、相模原、Journal of Lipid Nutrition 21, No. 2, 208.

4) 河村さやか、内藤由紀子、立花滋博、小野田早恵、大原直樹、吉川真衣、新美まどか、川口真帆、宮澤大介、安井裕子、山田和代、奥山治美。植物油摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSP) の生存日数に及ぼす影響 -カノーラ油による生存日数短縮とその背景 -：日本薬学会フォーラム2012 衛生薬学、環境トキシコロジー、2012.10.25-26、名古屋、要旨集166.

5) 紀旭、内藤由紀子、翁華春、遠藤恒介、馬嘯、岩井直温：高血圧と腎傷害における P2X7 受容体の役割、第16回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2012.11.23-11.24、東京、要旨集89.

6) 翁華春、紀旭、内藤由紀子、岩井直温：Pex11 α deficiency impairs peroxisome elongation and division and contributes to nonalcoholic

fatty liver in mice、第77回日本循環器学会、2013.3.15-3.17、横浜、PJ-791 (抄録CD掲載) .

7) Yukiko Naito, Xiao Ma, Kosuke Endo, Xu Ji, Huachun Weng, Naoharu Iwai: Effects of ω -3 and ω -6 fatty acid supplementation on regulation of blood glucose in mice、第86回日本薬理学会年会、2013.3.21-23、福岡、Journal of Pharmacological Sciences 121, 21 suppl 1, 237P.

8) Chihiro Amma, Mai Takamatsu, Mai Yoshikawa, Madoka Niimi, Maho Kawaguchi, Yukiko Naito, Shigehiro Tachibana, Naoki Ohara, Harumi Okuyama. Sex difference of the adverse effects induced by canola oil ingestion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP)、第86回日本薬理学会年会、2013.3.21-23、博多、Journal of Pharmacological Sciences 121, 21 suppl 1. 238P.

H. 知的所有権の取得状況

無し

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

ニュートリゲノミクス解析に基づく機能性食用油の安全性に関する研究

—機能性食用油の安全性に関する研究—

研究代表者 内藤 由紀子 独立行政法人国立循環器病研究センター・
病態ゲノム医学部・室長

研究分担者 岩井 直温 独立行政法人国立循環器病研究センター・
病態ゲノム医学部・部長

研究要旨

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）および正常血圧 Wistar- Kyoto（WKY）ラットに4週間7w/w%特定保健用食品（トクホ）植物油含有無脂肪精製粉末飼料を自由摂取させた。体重および摂餌量に群間差が認められなかった。SHRSPの血漿総コレステロールは、対照群と比較して全群で高値を示したが、いずれもHDLコレステロール増加によるものであった。また、動脈硬化指数（AI）は、HC群のみで低値を示した。一方、WKYラットにおいてはSHRSPで見られた血液生化学的影響は認められなかった。両系統とも、各植物油摂取による体重への影響は認められなかったが、SHRSPのHC群の肝臓および脾臓重量とKS群の肝臓および心重量が増加し、WKYラットのHRおよびHC群の肝臓重量の増加が認められた。

以上をまとめると、SHRSPに4週間トクホ植物油（HR、HCおよびKS）を摂取させると、これまでに得られた結果からは顕著な有害作用が認められないことが明らかとなった。SHRSPではいずれの油でもHDLコレステロールを増加させ、WKYラットと比較してAI値が高いSHRSPがHCを摂取すると、動脈硬化の危険度を表すAI値が低値となることがわかった。

A. 研究目的

トクホ表示を許可された食用調理油（植物油）は、2012年時点で3品目であるが、本研究では、同条件下でこれらの安全性や、生活習慣病の発症および進行への影響の有無を調べることを目的とする。そして、その影響の

背景機構を解析し、国民の健康的な生活のための情報源として役立てる。平成24年度は生活習慣病の中から脳卒中に注目し、SHRSPおよびWKYラットを用い、3種のトクホ植物油摂取の影響を調べた。

B. 研究方法

1. トクホ植物油

本研究では、トクホの植物油全3種を〔ヘルシーリセッタ (HR、日清オイリオグループ、東京)、ヘルシーコレステ (HC、日清オイリオグループ) および健康サララ (KS、味の素、東京)〕を用いた。HR は中鎖脂肪酸強化、HC および KS は植物ステロール強化植物油である。メーカーによる各情報を Table 1 にまとめた。

3. 飼料

AIN93G 精製粉末飼料の脂肪源である大豆油 (7w/w%含有) と、各トクホ植物油を置き換える飼料を調製した。

AIN93G 無脂肪精製粉末飼料に、7w/w%HR、HC または KS を添加した特殊飼料を調製した (オリエンタル酵母工業、東京)。また対照 (Cont) 飼料として AIN93G 精製飼料を用いた。各飼料の脂肪酸組成およびステロール類含量を測定した (ガスクロマトグラフ法、日本食品分析センター、東京)。また、n-3/n-6 脂肪酸比および植物ステロール/コレステロール比を算出した。なお添加量の 7w/w%は、Cont 飼料に含有する脂肪 (大豆油) 量に基づく。

4. 動物

雄性 SHRSP および WKY ラット各 24 匹 (6 週齢) を用いた (日本エスエルシー、浜松)。1 週間の検疫・馴化後、収縮期血圧および体重をもとに各系統とも 1 群 6 匹 4 群に分け、それぞれ Cont 群、HR 群、HK 群および KS 群とした。動物は、床敷を敷いた樹脂製ケー

ジに 3 匹/ケージの密度で飼育した。飼育施設の環境設定は温度 20~23°C、湿度 40~55%、12 時間照明 (7 時~19 時:点灯、19 時~7 時:消灯) とした。各飼料および水道水 (給水ビン) を 4 週間自由摂取させた。

5. 検査及び測定

5-1 一般状態の観察

摂取期間中、全例の一般状態を観察した。

5-2 体重、摂餌量および血圧測定

体重および摂餌量 (24 時間) は、週 1 回測定した。また、tail-cuff 法により血圧および心拍数を測定した (週 1 回、BP-98A、Softron、東京)。

5-3 尿検査

摂取最終週に、代謝ケージで動物を個別飼育し、24 時間採尿して尿量を測定し、尿比重を算出した。

5-4 解剖

摂取期間終了後、動物をペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹大静脈よりヘパリン加採血して血漿を得、-80°Cで保存した。放血致死後、動物を剖検し、さらに心臓、肝臓、脾臓、腎臓 (両側)、副腎 (両側)、精巣 (両側)、内臓脂肪 (精巣上体周囲) および脳 (SHRSP のみ) の重量を測定した。また、単位体重当たりの重量 (相対重量) を算出した。摘出器官の一部は病理組織検査用にホルマリン固定し、残りを液体窒素で凍結後、-80°Cで保存した。凍結精巣は、「食用油摂取がステロイドホルモン代謝に及ぼす影響」の研究用とした。

5-5 血液生化学検査

血漿中の総コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセリドおよびグルコースを測定した（富士ドライケム 7000V、富士フイルム、東京）。また、非HDL コレステロール値（総コレステロール-HDL コレステロール）および動脈硬化の危険度の指標である動脈硬化指数 { (総コレステロール-HDL コレステロール) / HDL コレステロール、arteriosclerosis index、AI } をそれぞれ算出した。

5-7 トランスクリプトーム解析

TRIzol (Invitrogen、CA、アメリカ) を用いて、各動物の肝臓から RNA を抽出・精製し、個別サンプルとした。さらにこれらを群毎にプールした群サンプルを、アレイ解析用のサンプルとした。遺伝子発現の差異は、ラットオリゴチップ 3D-Gene 20k (東レ、東京) を用いて調べた。

(倫理面への配慮)

「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、科発第 0601001 号）」を遵守し、研究開始前に「国立循環器病研究センター動物実験実施規定」に基づく研究計画書を作成し、同実験管理委員会による審査が行われ、実験動物に対する動物愛護上の配慮等、倫理的配慮が適正であることが同総長により承認されている。

C. 研究結果

1. 調製飼料の脂肪酸含量

HR は中鎖脂肪酸（炭素数が 8~10 個）を強化した食用油であるが、これを添加した HR 飼料中に、カプリル酸（8:0）およびカプリン酸（10:0）がそれぞれ 8.4 および 2.8% の割合で含有していた (Table 2 および Figure 1)。一方、その他の Cont 飼料、HC 飼料および KS 飼料にはどちらの脂肪酸も含有しなかった。また、n-3 系不飽和脂肪酸である α -リノレン酸は、4 飼料中に 4~10% の範囲で含有していたが、n-6 系不飽和脂肪酸であるリノール酸は Cont 飼料および KS 飼料で約 53% 含有していたのに対し、HR 飼料で最も低く 18.1% であった。これらをもとに算出した n-3/n-6 比は、Cont 飼料、HR 飼料、HC 飼料および KS 飼料で、それぞれ 0.128、0.409、0.155 および 0.188 であり、HR 飼料で最も高かった。

2. 調製飼料のステロール類含量

測定結果を Table 3 および Figure 2 に示した。飼料中のコレステロール含量は、4 飼料とも同量であった (6 mg/100 g)。HC 飼料および KS 飼料には、それぞれ植物ステロールが強化された HC および KS が 7w/w% が含有する。HC 飼料および KS 飼料中の総植物ステロール量は、それぞれ 259 および 108 mg/100 g であった。なお、メーカー情報である各食用油中の植物ステロール量と、本研究で測定した Cont 飼料中の植物ステロール量をもとに算出した理論値は、HC 飼料で 246 mg/100 g、KS 飼料で 140 mg/100 g であった。HC および KS 飼料では、どちらも主に β -

シトステロールが多かった。以下、HC 飼料では、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロールの順に、KS 飼料では、カンペステロール、スチグマステロール、7-スチグマステロールの順に多く含まれていた。また、植物ステロール/コレステロール比を比較したところ、Cont 飼料で 3.5、HR 飼料で 7.5 であったのに対し、植物ステロール強化植物油を添加した HC 飼料および KS 飼料では、それぞれ 43.2 および 18.0 であった (Figure 3)。また、HR は植物ステロール強化を謳っていないが、HR 飼料中の植物ステロール量は、Cont 飼料の約 2 倍量であることがわかった。

3. 一般状態

摂取期間中、全ての動物で異常が認められなかった。

4. 体重および摂餌量

摂取期間中の体重の推移および摂餌量の変化を、それぞれ Figure 4 および Figure 5 に示した。両系統において、体重および摂餌量に群間差は認められなかった。

5. 血圧および心拍数

摂取期間中の血圧 (収縮期、拡張期および平均) および心拍数の変化を Figure 6~9 に示した。SHRSP では、HC 群および KS 群の拡張期および平均血圧は、摂取 3 および 4 週に有意に高値を示した。しかし収縮期血圧および心拍数には、群間差が認められなかった。WKY においては、期間を通して血圧および心拍数に群間差は認められなかった。

6. 尿検査

両系統とも、尿量および尿比重に群間差は認められなかった (Figure 10 および 11)。

7. 器官重量

相対肝臓重量は、SHRSP の HC 群および KS 群、WKY ラットの HR および HC 群において、それぞれ Cont 群と比較して有意に高かった。SHRSP の HC 群の脾臓重量および KS 群の心臓重量も Cont 群と比較して高値を示した。その他、腎臓、副腎、精巣、精巣上体周囲脂肪および脳 (SHRSP) の相対重量には、群間差が無かった (Figure 12~19)。

8. 血漿脂質および血糖値

血漿中総コレステロールレベルは、SHRSP において Cont 群と比較して、HR、HC および KS 群でそれぞれ有意に高かった (Figure 20)。これは HDL コレステロールの増加によるものであった (Figure 21)。WKY ラットではどちらも群間差がなかった。また、トリグリセリドおよびグルコースレベルは、両系統において群間差が認められなかった (Figure 22 および 23)。非 HDL コレステロール値は、どちらの系統においても群間差が無かった (Figure 24)。総コレステロールおよび HDL-コレステロールレベルから算出した AI は、SHRSP と WKY ラットの Cont 群と比較すると、SHRSP の Cont 群が高かった (SHRSP: 0.45 ± 0.02 、WKY ラット: 0.26 ± 0.02 、 $p < 0.001$)。SHRSP の HC 群の AI は、Cont 群と比較して有意に低値を示した (0.31 ± 0.03) が、

SHRSP のその他の群および WKY ラットにおいては有意差が認められなかった (Figure 25)。

9. 遺伝子発現の変化

マイクロアレイの結果、Cont 群と比較して発現が4倍以上変化して遺伝子数をまとめた (Table 4)。WKY ラットにおいては、増加および減少した遺伝子数に差はなかったが、SHRSP ではどの群においても減少した遺伝子数が増加した遺伝子数よりも多かった。Cont 群と比較して、減少した遺伝子数は、HR、HC および KS 群でそれぞれ 18、15 および 60 であり、増加した遺伝子数はそれぞれ 4、1 および 2 であった。パスウェイ解析等の詳細な解析は進行中である。

D. 考察

トクホの植物油を4週間 SHRSP および WKY ラットに自由摂取させると、一般状態を悪化させるような作用はないことがこれまでに得られた結果からわかった。

HR は中鎖脂肪酸が強化された食用油であるが、調製飼料の化学分析の結果から、Cont 飼料では検出されなかった中鎖脂肪酸が検出された。また、n-6 系不飽和脂肪酸であるリノール酸の割合が低くなっていることが分かった。これにより、脂肪酸の n-3/n-6 比が Cont 飼料よりも高かった。循環器系疾患の原因となる高脂血症や血栓等の予防効果の報告がある n-3 系脂肪酸は、摂取が推奨されると同時に、摂取する n-6 系脂肪酸との比率も重要で

あるということもいわれている。この観点から HR はこれらの疾患を予防する効果が期待できる脂肪酸組成となっている可能性がある。

「身体に脂肪が付きにくい」HR を添加した HR 飼料の摂取は、SHRSP および WKY ラットにおいて体重、血漿トリグリセリドレベルおよび内臓脂肪 (精巣周囲) に影響を与えなかった。これらに対する影響を調べるには摂取期間延長や高脂肪食負荷を与える等の条件を変えることが必要かもしれないが、肥満状態ではない動物の体重を減少させる等の有害作用は無いことが本研究によって明らかとなった。

「コレステロールが高めの方に適する」HC または KS を添加した HC 飼料または KS 飼料の摂取は、SHRSP で HDL コレステロールレベル上昇と、それに伴う総コレステロールレベルの上昇を誘導した。したがって、本研究条件下では、これらの植物油摂取による総コレステロールおよび非 HDL コレステロールの低下作用は認められないことがわかった。

SHRSP は WKY ラットと比較しコレステロールレベルは低い、AI 値は高いことがわかった。この動脈硬化の危険度を示す AI は、SHRSP の HC 群は、Cont 群と比較して低値を示した。このことから、HC 摂取は、動脈硬化の危険度を低減させる作用を有することが示唆された。

SHRSP の HC および KS 群の摂取第 3 および 4 週の拡張期および平均血圧が高くなることが明らかとなった。KS

群の心重量が増加したこととの関連は、現在行っている解析結果とあわせて考察する予定である。

SHRSP の HC および KS 群、WKY ラットの HR および HC 群では、相対肝臓重量が増加した。進行中の病理組織検査およびトランスクリプトーム解析の結果と合わせて考察する予定である。SHRSP の HC 群の脾臓重量が高くなった原因は、これまで得られたデータからは明らかとならなかった。

トランスクリプトーム解析は現在進行中であるが、Cont 群と比較したトクホ植物油摂取群における遺伝子発現の変動は、WKY ラットよりも SHRSP でより多いことがわかった。パスウェイ解析等により詳細に調べる予定である。

E. 結論

SHRSP および WKY ラットにトクホの植物油 3 種 (HR、HC および KS) を 4 週間摂取させ、これまでに得られた結果から、顕著な有害作用が認められないことが明らかとなった。また、WKY ラットと比較して AI 値が高い SHRSP に HC を摂取させると、動脈硬化の危険度を表す AI 値が低値になることがわかった。一方、SHRSP で認められた HC および KS 摂取第 3 週以降の拡張期・平均血圧の上昇、相対肝臓重量の増加等に関しては、現在進行中の病理組織検査およびトランスクリプトーム解析の結果と合わせて次年度にまとめる。

(参考文献)

1) Ntambi JM. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res* 40, 1549-1558, 1999.

F. 健康危険情報

(総括報告書記載事項)

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Xu Ji, Yukiko Naito, Huachun Weng, Kosuke Endo, Xiao Ma, Naoharu Iwai. P2X7 deficiency attenuates hypertension and renal injury in deoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 303: F1207-F1215, 2012.

2. 学会発表

1) 内藤由紀子、遠藤恒介、紀旭、馬嘯、立花滋博、安藤栄里子、青木聡子、永田伴子、宮澤大介、岩井直温：DSS 誘導ラット大腸炎に対するアラキドン酸補給の影響、日本脂質栄養学会第 21 回大会、2012.9.7-9.8、相模原、*Journal of Lipid Nutrition* 21, No. 2, 205.

2) 紀旭、内藤由紀子、翁華春、遠藤恒介、馬嘯、岩井直温：高血圧と腎傷害における P2X7 受容体の役割、第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2012.11.23-11.24、東京、要旨集 89.

3) 翁華春、紀旭、内藤由紀子、岩井

直温 : Pex11 α deficiency impairs peroxisome elongation and division and contributes to nonalcoholic fatty liver in mice、第77回日本循環器学会、2013. 3. 15-3. 17、横浜、PJ-791 (抄録CD掲載) .

4) Yukiko Naito, Xiao Ma, Kosuke Endo, Xu Ji, Huachun Weng, Naoharu Iwai: Effects of ω -3 and ω -6 fatty acid supplementation on regulation of blood glucose in mice、第 86 回日本薬理学会年会、2013. 3. 21-23、福岡、Journal of Pharmacological Sciences 121, 21 suppl 1, 237P.

H. 知的所有権の取得状況

なし

Table 1-1 被験物質の比較（独立行政法人国立健康栄養研究所「健康食品の安全性・有効性情報」より抜粋¹⁾）

食品名	ヘルシーリセッタ	ヘルシーコレステ	健康サララ
本研究での略称	HR	HC	KS
製造あるいは販売者	日清オイリオグループ株式会社	日清オイリオグループ株式会社	味の素株式会社
許可された年月	平成 14 年 12 月	平成 15 年 9 月	平成 13 年 12 月
許可された表示	この油は、中鎖脂肪酸を含み、体に脂肪がつきにくいのが特徴です。体脂肪が気になる方や肥満気味の方は、通常の油に替えて、この油をお使いいただくことをおすすめします。	この油は、コレステロールの体内への吸収を抑える植物ステロールを豊富に含んでいるので、血中コレステロールを下げるのが特長です。コレステロールが気になる方の食生活の改善に役立ちます。	大豆胚芽を原料とする健康サララは、コレステロールの体内への吸収を抑える働きがある天然の植物ステロールを豊富に含んでいるので血中総コレステロールや悪玉 (LDL) コレステロールを下げるのが特長です。コレステロールが高めの方の毎日の食事におすすめです。
一日当たりの摂取目安量	各種料理に合わせて通常ご使用の食用油と同じ様に調理用油、卓上油としてお使いください。普段ご使用の食用油と同じ量でご使用になれます。一日当たり摂取目安量として 14 g 程度を摂取してください。(日本人の食用油の平均摂取量は 10~14 g/日です)	各種料理に合わせて通常ご使用の食用油と同じ様に調理用油、卓上油としてお使いください。普段ご使用の食用油と同じ量でご使用になれます。一日当たり摂取目安量として 14 g 程度を摂取してください。(日本人の食用油の平均摂取量は 10~14 g/日です)	調理用の油として、普段ご使用の食用油と同じようにお使いください。(日本人の食用油摂取量は平均 10~12 g/日)

Table 1-2 被験物質の比較（独立行政法人国立健康栄養研究所「健康食品の安全性・有効性情報」より抜粋¹⁾）〔続き〕

食品名	ヘルシーリセッタ	ヘルシーコレステ	健康サララ
本研究での略称	HR	HC	KS
関与成分	中鎖脂肪酸 1.6 g/14 g	植物ステロール 0.45 g/14 g	植物ステロール 238 mg、1回平均 使用量 14 g（大さじ1）あたり
	中鎖脂肪酸（カプリル酸、カプリン酸）は、ヒトの母乳中に脂肪酸含量の1.5～2.9%、牛乳等の乳製品中に4.0～4.7%、ヤシ油中に13.9%、パーム核油中に7.1%含まれるきわめて日常的に摂取される食品成分または乳成分である。	植物ステロールは、植物の原形質膜の構成成分であり、 β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロールを主成分とする、炭素数28～29のステロール類である。市販される食用植物油、特に米サラダ油、ナタネ油、コーン油、ごま油に多く含まれ（約0.5～1%）、通常植物油中では、遊離体または脂肪酸エステル体として存在する。	

Table 1-3 被験物質の比較（独立行政法人国立健康栄養研究所「健康食品の安全性・有効性情報」より抜粋¹⁾）〔続き〕

食品名	ヘルシーリセッタ	ヘルシーコレステ	健康サララ
本研究での略称	HR	HC	KS
作用・効能・機序	<p>中鎖脂肪酸は、吸収・代謝において、菜種油、大豆油のような一般的な食用油（長鎖脂肪酸）と比較して、以下の特長が知られている。「消化管内での分解が極めて早く、速やかに吸収される。」「腸管膜内でトリグリセリドへ再合成されることなく脂肪酸の形態で門脈から肝臓に移行される。」「ミトコンドリア内外膜通過時にカルニチン輸送系に依存しない。」「吸収、酸化が早くエネルギーとして利用されやすい。」「食後の熱産生を増大する。」</p>	<p>植物ステロールは食事由来のコレステロール吸収を阻害することにより、血中総コレステロール (TC) および低比重リポ蛋白コレステロール (LDL-C) 低下作用を示すことが広く知られている。そのメカニズムは、植物ステロールが、コレステロールの胆汁酸ミセルへの溶解を阻害する為と一般的に認められている。</p>	<p>コレステロールは小腸内腔で胆汁酸ミセルに溶解することが必須である。胆汁酸ミセルには限られた量のステロールしか溶解できないため、コレステロール同様、胆汁酸ミセルに溶解する働きを持つ植物ステロールが存在すると相対的にコレステロールの溶解量が減少し、吸収が抑制される。</p>