



Title	リノール酸摂取によるマウス皮膚，肝臓，血液の脂質代謝に及ぼす影響
Author(s)	及川, 大地; 間ノ瀬, 晶子; 吉田, 彩乃; 中尾, 侑
Citation	長崎大学教育学部紀要:自然科学, 82, pp.9-22; 2014
Issue Date	2014-03-01
URL	http://hdl.handle.net/10069/34483
Right	

This document is downloaded at: 2017-12-22T08:23:13Z

リノール酸摂取によるマウス皮膚，肝臓，血液の 脂質代謝に及ぼす影響

長崎大学教育学部 生活健康講座 食物学研究室

及川 大地，間ノ瀬晶子，吉田 彩乃，中尾 侑

Effects of linoleic acid administration on lipid metabolism of
skin, liver and blood in mice

Daichi OIKAWA, Shoko MANOSE, Ayano YOSHIDA and Yuki NAKAO

Food Science Laboratory, Faculty of Education, Nagasaki University

(Received October 31, 2013)

概 要

リノール酸が血中コレステロール濃度を低減させる作用は報告されており，日常使われているベニバナ油の中にもリノール酸が多く含まれている商品も開発されている。しかし，これまでリノール酸の摂取が皮膚においてどのような影響を与えるか検証した生体内研究はほとんどない。

そこで本実験では，成長過程において摂取するリノール酸が皮膚，肝臓および血液の性状にどのように影響するのか，脂質代謝を中心に検証した。

4週齢のICR雄マウス24匹を個別ケージに導入後，1週間，市販飼料を給餌し馴化した。その後，平均体重が一定になるよう4群（ $n=6$ ）に振り分け，10%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料（Control群），高リノール酸ベニバナ油2%および8%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料（2%LA群），高リノール酸ベニバナ油4%および6%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料（4%LA群），高リノール酸ベニバナ油8%および2%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料（8%LA群）をそれぞれ4週間与えた。飼育期間開始から4週間経過後に頸椎脱臼および頸動脈からの放血により屠殺し，皮膚，脂肪組織，肝臓および血液を採取した。

飼育試験終了後，肝臓，腎臓周囲脂肪並びに精巢上体脂肪を採取し，各臓器重量を測定したところ，群間に有意な差は見られなかった。血漿中トリアシルグリセロール（TG），総コレステロール（T-Chol），遊離脂肪酸（NEFA）およびレプチンの各濃度について生化学的手法を用いて測定し，いずれも群間に有意差は認められなかった。一方，アディポネクチン濃度はControl群に比べて2%LA群および4%LA群で有意に高く，さらに2%LA群は8%LAより有意に高い値を示した。皮膚および肝臓中の脂質分析に関しては，TG，T-Cholおよびリン脂質量を測定し，いずれも群間に有意差は認められなかった。皮膚における脂肪酸組成は，餌のリノール酸含有率に従って皮膚中にリノール酸が移行した

ことが確認でき, 8% LA 群のリノール酸は Control 群と比較して2倍以上皮膚に含有した。一方, オレイン酸の皮膚中含有率は LA 飼料の用量依存的に減少していることが明らかとなった。

本研究から, 日常食の一部の油脂をリノール酸高含有のベニバナ油に代替すると, 脂質代謝関連の血中成分および皮膚の脂肪酸組成に顕著に影響を与えることが明らかとなった。

背 景

皮膚は紫外線, 放射線, 細菌などの外的因子から動物を守る大切な役割を持つ[1]。皮膚は表皮, 真皮, 皮下組織の三層構造で構成している。表皮は最外層にあり, 外的因子の進入を直接防御している。真皮はコラーゲンやエラスチンを含み, 皮膚の弾力性および柔軟性を担っている。皮下組織は, 主に脂肪細胞が集まっており, 脂質を蓄えている。皮下の血流は皮下組織層や全身の肥満と関連する[2][3]。皮膚の機能や性状は, 栄養状態に大きく影響される。例えば, 摂取する脂肪酸の種類によって影響を受けることがある[1]。

日本人の食事摂取基準(2010年版)において, 18~29歳の脂質摂取基準は脂肪エネルギー比率20%以上30%未満とされている[4]。脂質の過剰摂取は生活習慣病の発症と関係しているが, 逆に脂質エネルギー比率が15%以下になると脳出血が増加し, 平均寿命が低くなる。脂質の摂取は多すぎても少なすぎても健康に影響を及ぼすことが明らかになっている[5]。

脂質は三大栄養素の一つであり, エネルギー源として使われる。1gあたり約9kcalのエネルギーを作ることができ, エネルギー貯蔵物質として, 熱量の体内貯蔵に役立っている。さらに, 体の構成成分でもあり, 誘導脂質として脳, 神経または肝臓などの主要臓器組織の細胞構成成分となる。他にも, コレステロールはステロイドホルモン, 胆汁酸などの母体となるなど重要な役割を持っている[6]。このように体の成分や生体調節機能を有する脂質は, 成長段階で欠かすことのできない栄養素であり, 成長段階で摂取する脂質は生体に大きな影響を与える可能性があると考えられる。

脂質には中性脂肪(トリアシルグリセロール), コレステロール, リン脂質などがあり, 食品に含まれる脂質の大部分は中性脂肪である。中性脂肪の構造はグリセリンに脂肪酸が三分子結合したものであり, 摂取した中性脂肪は消化酵素により分解され, 小腸から体内に吸収される。脂肪酸には飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸があり, リノール酸は不飽和脂肪酸のなかでも, 多価不飽和脂肪酸に含まれる[5]。

リノール酸は, 主にベニバナ油, ヒマワリ油, コーン油, 大豆油およびブドウ油など植物の種子から抽出した油脂に多くの割合で含まれている[7]。特にベニバナ油はリノール酸の割合が高い高リノール酸ベニバナ油も市場で販売されていた。リノール酸は炭素数18個, 二重結合を二つ有し, C18:2で示される。必須脂肪酸に分類されるリノール酸は, 体内で合成することが出来ず, 食品から栄養素として取り入れなければいけない[5]。また, リノール酸は摂取するエネルギーの2~3%程度が必要とされている[8]。体内において, 摂取したリノール酸は6不飽和化酵素の作用により, γ -リノレン酸(C18:3)へと変化する。次に δ -リノレン酸は長鎖化酵素の働きによりジホモ γ -リノレン酸(C20:3)と

なり，5不飽和化酵素が関与することでアラキドン酸(C20:4)が生成される[9]。さらにアラキドン酸はホルモン様作用を有するエイコサノイドの源となるため不可欠である。例えばプロスタグランジンE₂(PGE₂)は胃粘膜細胞，精嚢腺，マクロファージ，線維芽細胞，骨芽細胞を産出するため，胃粘膜保護，免疫抑制，血管拡張，子宮筋収縮，骨吸収の生理作用がある[10]。n-6系脂肪酸は細胞膜リン脂質の構成成分として大きな影響を与え，極度にその含有量が低下した場合，皮膚では角質が異常増加し，角化症になることが報告されている[11]。皮膚以外においてもリノール酸が欠乏した場合，成長阻害，生殖不全，脂肪肝，頻渇多飲の症状が現れる可能性がある[8]。リノール酸は血清コレステロール濃度を低減させる効果がある一方，過剰に摂取すると善玉コレステロールも下げ，発がんを促進することが報告されている[8]。また，PGE₂は痛みに関与し，LTB₄は痒みをもたらす物質であることが報告されている[12][13]。実際，アトピー性皮膚炎の患者はエイコサノイド前駆体物質であるアラキドン酸量は少なくない。さらにアラキドン酸へ代謝されるリノール酸の多量摂取は，プロスタグランジンやロイコトリエンが過剰に生成され，皮膚炎などアレルギーを助長する危険性がある[6][14]。しかし，これまでリノール酸の摂取が皮膚においてどのような影響を与えるか検証した生体内研究はほとんどない。

そこで本実験では，臨床の代替としてマウスを用い，成長過程において摂取するリノール酸油脂が皮膚，肝臓および血液の性状にどのように影響するのか，脂質代謝を中心に検証した。

実験方法

1. 実験動物と飼料調製

実験には4週齢のICR雄マウス(日本エスエルシー(株))24匹を使用した。個別ケージに導入後，1週間，市販飼料(オリエンタル酵母工業(株))を給餌し，マウスを馴化した(飼育条件:室温22±2℃，湿度55%±10%)。その後，平均体重が一定になるよう4群(n=6)に振り分け，10%オリーブオイル(Jオイルミルズ(株))を添加したMF粉末飼料(Control群)，高リノール酸ベニバナ油(日清オイリオ(株))2%および8%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料(2%LA群)，高リノール酸ベニバナ油4%および6%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料(4%LA群)，高リノール酸ベニバナ油8%および2%オリーブオイルを添加したMF粉末飼料(8%LA群)をそれぞれ4週間与えた。これらマウスに与えた飼料の食餌組成を表1にMF飼料の栄養素組成を表2に示し，添加した油脂および実験群の餌中脂肪酸組成を表3および表4に示した。飼料および水は自由摂取，自由飲水とした。1週間ごとに体重測定を行い，摂餌量はローデントカフェを用いて測定した。

飼育期間開始から4週間経過後に頸椎脱臼および頸動脈からの放血により屠殺し，皮膚，脂肪組織，肝臓および血液を採取した。血液はヘパリンナトリウム注射液(味の素(株))を添加し，遠心分離した後，血漿を採取した。これらの臓器および血漿は分析に用いるまで-80℃にて冷凍保存した。

なお，本研究における動物実験は，「長崎大学動物実験規則」を遵守し，長崎大学動物

実験委員会のガイドラインに則って行ったものである。

表1 食餌組成

g/100g	Control	2% LA	4% LA	8% LA
MF 粉末飼料	90.0	90.0	90.0	90.0
オリーブ油	10.0	8.0	6.0	2.0
高リノール酸ベニバナ油	0.0	2.0	4.0	8.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0

表2 MF 飼料の栄養素組成

栄養素組成	1kg 当たり
水分	77g
粗タンパク質	236g
粗脂肪	53g
粗灰分	61g
粗食物繊維	29g
可溶性無窒素物	544g
カロリー	360kcal

実験動物飼料カタログ 2009
(オリエンタル酵母株式会社) より抜粋

2. 測定

2.1. 肝臓重量, 腎臓周囲脂肪重量および精巢上体脂肪重量

飼育試験終了後, 解剖により肝臓, 腎臓周囲脂肪並びに精巢上体脂肪を採取し, 各臓器重量を測定した。

2.2. 血液成分分析

前述したように, 飼育 4 週間経過後採取した血液については, 血漿中トリアシルグリセロール (TG), 総コレステロール (T-Chol) および遊離脂肪酸 (NEFA) の各濃度, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) 活性を各測定キット (和光純薬工業 (株)) を用いて測定した。また, レプチン, アディポネクチン濃度についてもそれぞれ測定キット (森永生化学研究所 (株) および大塚製薬 (株)) を用いて測定した。

表3 油脂の脂肪酸組成(%)

脂肪酸の種類		オリーブ油	高リノール酸 ベニバナ油
パルミチン酸	C16:0	15.1	7.2
パルミトオレイン酸	C16:1	1.6	0.1
ステアリン酸	C18:0	2.5	2.7
オレイン酸	C18:1	68.4	14.5
リノール酸	C18:2	10.6	74.1
γ-リノレン酸	C18:3	0.6	0.5
その他		1.3	0.9

合計		100.0	100.0

飽和脂肪酸		17.6	10.0
不飽和脂肪酸		81.8	89.7
一価不飽和脂肪酸		70.3	14.9
多価不飽和脂肪酸		11.5	74.8

n-6系脂肪酸		11.3	74.6
n-3系脂肪酸		0.2	0.2

2.3. 皮膚の脂質分析

解剖により採取した皮膚を用い，TG，T-Chol およびリン脂質量を測定した。

皮膚中の脂質の抽出は Folch 法の改変した方法を用いて行った[15]。凍結保存した皮膚約0.1gを細かく刻み，メタノール，クロロホルムをそれぞれ6mLずつ加えてホモジナイズした。さらにクロロホルムを6mL加え，再度ホモジナイズした後，30分間40℃に加熱した。これを常温まで冷まし，ろ紙にてろ過後，ろ液に3.6mLを加え振盪した。4℃下で放置した後，パスツールピペットで上層を捨て，下層は窒素気流化により乾固した。残留物は総脂質として重量を測定した。さらに総脂質を5mLの2-プロパノールに溶かした後，この溶液から1mL×3本採取し，窒素気流化により乾固した。1本目は10μLの2-プロパノールに溶かしたものを総コレステロール測定キット（和光純薬工業（株））を用いて測定した。一方，2本目は1mLの2-プロパノールに溶かし，トリアシルグリセロール測定キット（和光純薬工業（株））を用いてTG量を測定した。3本目は，リン脂質の測定に用いた。本測定はPL分析法[16]を用いて測定した。過塩素酸1mLを加え，190℃で加熱した。冷却後5mLの水を加え，2.5%モリブデン酸アンモニウム水溶液を1mL

表4 各群の餌中脂肪酸組成(%)

脂肪酸の種類		Control	2%LA	4%LA	8%LA
パルミチン酸	C16:0	15.1	13.5	11.9	8.8
パルミトオレイン酸	C16:1	1.6	1.3	1.0	0.4
ステアリン酸	C18:0	2.5	2.5	2.6	2.7
オレイン酸	C18:1	68.4	57.6	46.8	25.2
リノール酸	C18:2	10.5	23.3	36.0	61.4
γ -リノレン酸	C18:3	0.6	0.6	0.6	0.5
その他		1.3	1.2	1.1	1.0
合計		100.0	100.0	100.0	100.0
飽和脂肪酸		17.6	16.1	14.6	11.5
不飽和脂肪酸		81.8	83.4	85.0	88.2
一価不飽和脂肪酸		70.3	59.3	48.2	26.0
多価不飽和脂肪酸		111.5	24.2	36.8	62.1
n-6系脂肪酸		11.3	23.9	36.6	62.0
n-3系脂肪酸		0.2	0.2	0.2	0.2

および10%アスコルビン酸溶液を1 mL添加した。混和後100 で5分間加熱し、マイクロプレートリーダー (Epoch, BioTek, USA) を用いて820nmの波長にて測定した。

さらに残りの脂質抽出液を用いて脂肪酸組成についても測定した。脂肪酸のエステル化は Kamegai らの方法を用いて行った[17]。脂質抽出液から1 mL採取し窒素気流化により乾固した後、0.5M-NaOHメタノールを1.5mL加え、窒素で封入し撹拌した。次に室温下で冷却し1 mL BF₃メタノールを加え窒素ガスで封入した後撹拌し、40 で10分間加温した。飽和食塩水を3 mL添加し撹拌した後氷で冷やし、2 mLのヘキサンを加え撹拌した。上層のヘキサン層を回収した後、窒素気流化により乾固した。最終的に100 μ Lのヘキサンで溶解した脂肪酸メチルエステル溶液を分析に用いた。ガスクロマトグラフィー (GC) (GC Labostage FID-SSL, J-science Lab co. Ltd) の測定条件は以下の通りである。(カラム: Omegawax 320 (30m \times 0.32mm \times 0.25 μ m film), カラム温度: 120 (1分) 4.0 /分 205 (14分) 10.0 /分 230 (1分), 注入口: 205, 検出器: 230, 検出器の種類: FID, キャリアガス: ヘリウム, 試料注入量: 1 μ L, スプリット比: 1:20, 流速: 2mL/分)

2.4. 肝臓の脂質分析

解剖により採取した肝臓を用い，TG，T-Cholおよびリン脂質量を測定した。

肝臓中の脂質抽出は皮膚からの脂質抽出と同様の方法[15]で行った。抽出後，窒素気流化で乾固し，5 mLの2-プロパノールに溶かした。この5 mLの中から100 μ Lまたは300 μ L採取し，測定キット（和光純薬工業（株））を用いてTG濃度またはT-Chol濃度を測定した。リン脂質については抽出液から0.2 μ L採取し窒素気流化により乾固したものをを用い，PL分析法[16]を用いて測定した。

3. 統計解析

実験結果は，平均値および標準誤差で示した。有意差検定は，Excelソフト（Microsoft, USA）を用いて一元配置の分散分析（ANOVA）を行った後，Stat viewソフト（SAS Institute）およびエクセル統計ソフト（社会情報サービス（株））にてTukey-Kramer法を用いてP値が0.05以下の時，有意差ありと判定した。

実験結果

1. 体重および摂餌量

試験開始時と試験終了時の体重差は，全ての群で有意な差は無かった（ $p = 0.36$ ）。各群の体重増加量を表5に示す。摂餌量は群間に有意な差は無かった（ $p = 0.54$ ）。期間中に摂取した飼料の合計量の比較を表5に示す。

2. 肝臓重量，腎臓周囲脂肪重量および精巣上体脂肪重量

肝臓重量，腎臓周囲脂肪重量および精巣上体脂肪重量は群間に有意差は認められなかった（ $p = 0.55$ ， $p = 0.62$ ， $p = 0.10$ ）。結果は表5に示す。

表5 摂餌量、体重増加量および各臓器重量

重量 (g)	Control	2%LA	4%LA	8%LA
摂餌量	153.3 \pm 6.2	159.4 \pm 5.5	165.4 \pm 3.5	158.3 \pm 7.5
体重増加量	18.2 \pm 0.9	20.4 \pm 1.7	21.3 \pm 1.1	18.7 \pm 1.6
肝臓	2.40 \pm 0.06	2.43 \pm 0.10	2.55 \pm 0.09	2.37 \pm 0.11
腎臓周囲脂肪	0.54 \pm 0.06	0.62 \pm 0.04	0.59 \pm 0.04	0.52 \pm 0.07
精巣上体脂肪	1.42 \pm 0.17	2.20 \pm 0.22	2.20 \pm 0.25	1.83 \pm 0.30

数値は平均値 \pm 標準誤差を示す。各群 n=6、有意水準 $p \leq 0.05$ 。

3. 血液成分

血漿中 TG, T-Chol および NEFA の各濃度について測定したところ, いずれも群間に差は認められなかった ($p=0.50$, $p=0.83$, $p=0.80$)。また, adipokine の一種であるレプチン濃度に関する有意差はなかった ($p=0.48$)。これらの結果は表 6 に示す。一方,

(ng/mL)

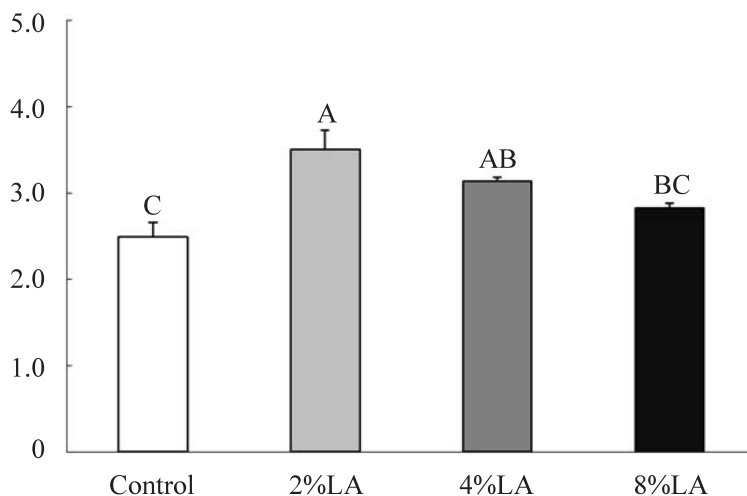


図 1 血液中のアディポネクチン濃度
 数値は平均値 ± 標準誤差を示す。各群 n=6
 異符号間で有意差あり ($p \leq 0.05$)

表 6 血液分析の結果

	Control	2%LA	4%LA	8%LA
TG (mg/dL)	201.4±14.8	249.1±35.4	224.8±16.1	209.3±20.6
T-Chol (mg/dL)	106.5±11.9	112.6±8.4	118.6±6.4	116.3±11.7
NEFA (Eq/L)	0.65±0.08	0.63±0.09	0.56±0.07	0.66±0.08
レプチン (ng/mL)	2.40±1.10	5.85±2.04	4.21±1.67	4.51±1.14
GOT (karman)	267.7±25.0	230.0±39.2	242.4±72.6	266.5±23.8
GPT (karman)	24.1±2.2	26.1±3.1	26.2±2.2	25.7±2.3

数値は平均値±標準誤差を示す。各群 n=6、有意水準 $p \leq 0.05$ 。

アディポネクチン濃度 (ng/mL) は各 Control 群 : 2.48 ± 0.17 , 2% LA 群 : 3.50 ± 0.22 , 4% LA 群 : 3.13 ± 0.05 , 8% LA 群 : 2.81 ± 0.06 となった (図 1)。2% LA 群および 4% LA 群のアディポネクチン濃度は Control 群に比べて有意に高くなり ($p < 0.001$, $p = 0.02$), さらに 2% LA 群は 8% LA より有意に高い値を示した ($p = 0.02$)。肝炎の指標物質である GOT, GPT 活性は, 油脂の変化による影響は見られなかった ($p = 0.91$, $p = 0.92$) (表 6)。

4. 皮膚中脂質

TG 量, T-Chol 量およびリン脂質量は, いずれも群間に差は認められなかった ($p = 0.31$, $p = 0.75$, $p = 0.09$)。結果は表 7 に示す。

皮膚の脂肪酸組成の結果は表 8 に示した。餌中のリノール酸の含有率に従って, 皮膚中にリノール酸が有意に移行したことが確認でき ($p < 0.001$), 8% LA 群は Control 群と比較して 2 倍以上皮膚に含有した ($p < 0.001$)。同じ n-6 系脂肪酸の ω -3 リノレン酸の皮膚中含有率は 2% LA 群が最高値を示し ($p = 0.005$), Control 群と 8% LA 群との間では有意差は無かった ($p = 0.45$)。n-6 系脂肪酸は, 皮膚中リノール酸と同様, 餌中リノール酸の用量依存的に増加した。 ($p < 0.001$)。一方, オレイン酸の皮膚中含有率は LA 飼料の用量依存的に減少していることが明らかとなった ($p < 0.001$)。飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の比率に関しては, 飼料の違いによる変化は表れなかったが ($p = 0.20$), 一価不飽和脂肪酸は LA 飼料の用量依存的に減少しており ($p < 0.001$), 多価不飽和脂肪酸は増加していた ($p < 0.001$)。

5. 肝臓中脂質

TG 量, T-Chol 量およびリン脂質量は, 群間に有意差は認められなかった ($p = 0.35$, $p = 0.34$, $p = 0.23$)。結果は表 9 に示す。

表 7 皮膚の脂質分析の結果

(mg/g 皮膚)	Control	2%LA	4%LA	8%LA
TG	132.7±14.1	184.1±12.2	159.8±19.8	175.5±29.6
T-Chol	1.29±0.08	1.20±0.09	1.23±0.06	1.31±0.07
リン脂質	5.34±0.23	4.30±0.15	4.80±0.40	5.05±0.29

数値は平均値±標準誤差を示す。各群 n=6、有意水準 $p \leq 0.05$ 。

表 8 皮膚の脂肪酸組成 (%)

脂肪酸の種類		Control	2%LA	4%LA	8%LA
パルミチン酸	C16:0	16.8±1.1	20.3±0.7	18.2±1.5	17.6±0.7
パルミトオレイン酸	C16:1	2.92±0.31	3.41±0.23	3.40±0.40	2.86±0.35
ステアリン酸	C18:0	2.35±0.07	2.30±0.06	2.28±0.09	2.47±0.09
オレイン酸	C18:1	56.3±1.9 ^A	44.2±0.8 ^B	40.8±1.1 ^B	29.1±0.4 ^C
リノール酸	C18:2	18.9±0.6 ^D	26.7±0.4 ^C	31.6±0.7 ^B	45.0±0.8 ^A
γ-リノレン酸	C18:3	0.83±0.03 ^B	0.99±0.03 ^A	0.97±0.04 ^A	0.90±0.02 ^{AB}
その他		1.86±0.21	2.07±0.19	2.72±0.73	2.07±0.08
合計		100.0	100.0	100.0	100.0
飽和脂肪酸		20.0±1.3	23.7±0.9	21.5±1.6	21.1±0.8
不飽和脂肪酸		80.0±1.3	76.3±0.9	78.5±1.6	78.9±0.8
一価不飽和脂肪酸		59.6±1.6 ^A	47.9±0.7 ^B	44.5±1.0 ^B	32.2±0.3 ^C
多価不飽和脂肪酸		20.4±0.6 ^C	28.4±0.4 ^B	34.0±0.9 ^B	46.7±0.8 ^A
n-6系脂肪酸		20.0±0.6 ^D	28.0±0.4 ^C	33.5±0.8 ^B	46.4±0.8 ^A
n-3系脂肪酸		0.42±0.04	0.34±0.07	0.48±0.13	0.37±0.01

数値は平均値±標準誤差を示す。各群 n=6、異符号間で有意差あり (p<0.05)。

表 9 肝臓の脂質分析の結果

(mg/g 肝臓)	Control	2%LA	4%LA	8%LA
TG	20.6±2.5	24.5±3.7	22.1±4.4	15.7±2.6
T-Chol	2.39±0.25	2.56±0.14	2.19±0.25	2.03±0.19
リン脂質	14.7±0.5	15.5±0.6	15.5±0.6	16.6±0.5

数値は平均値±標準誤差を示す。各群 n=6、有意水準 p<0.05。

考 察

本研究において，一日当たりおよび4週間の摂食量において全ての群が同量摂取したことが統計的に確認できた。また，体重増加量にも有意差はみられず，GOT および GPT 活性値にも影響は見られなかったため，今回の摂取方法では全ての群において肝臓炎症を誘起せず，異常なマウスは確認されなかった。

リノール酸には血清コレステロールを低減する作用があることが証明されているが[8]，今回の実験では血漿 T-Chol 濃度に有意差は認められなかった。その理由は，血中コレステロールの低減作用を証明したこれまでの実験では，無脂肪の餌に油を添加したのに対し[18]，今回の実験では予め脂質が含有されている飼料にリノール酸高含有油を添加したという部分が異なるからである。このことから，あらかじめ脂肪が含まれている食事にリノール酸高含有油を追加しても血漿コレステロール濃度には変化が表れないと示唆できる。血中アディポネクチン濃度は，2%LA 群で Control 群より明らかに高くなったが，リノール酸用量の上昇に反してこの濃度は低くなった。アディポネクチンはレプチンと同様，脂肪細胞から分泌される adipokine である[19][20][21]。肥満と血中アディポネクチン濃度は強い関係があり[22]，アディポネクチンはヒトの Body Mass Index，内臓脂肪量，血漿 TG 濃度と反比例し，HDL コレステロール濃度と比例する結果が報告されている[23]。本研究ではアディポネクチンの上昇が他の分析項目に反映していなかったが，高リノール酸の摂取量は2%前後がアディポネクチンへの最適用量と推測でき，脂質代謝に関与する遺伝子解析も含めた更なる研究が必要であると考えられる。Neschen らはリノール酸78%含有のベニバナ油をマウスに摂取すると血漿中アディポネクチン濃度が低下することを報告した[24]。彼らの研究で与えているベニバナ油27%（全餌重量当たり）は本研究で設定したベニバナ油の含有率より明らかに高く，4% LA 群以降アディポネクチン濃度が減少する結果と一致した。

肝臓，腎臓周囲脂肪並びに精巣上体脂肪の各臓器重量は有意な差は見られなかった。このことから，全ての群がこれらの臓器に影響を与えずに正常に成長したことが分かった。特に摂取したリノール酸は肝臓中の TG，T-Chol，リン脂質量にも影響を与えなかったことから，この脂質量が変化しなかったことが肝臓重量に影響を与えなかった要因であることは間違いない。

皮膚中の TG，T-Chol およびリン脂質量も統計的に有意な差は認められなかったため，皮膚においても今回の MF 飼料のように予め脂質が含まれた食事の中で，リノール酸を添加しても，脂質量には影響が表れないことが分かった。

血液，肝臓および皮膚の脂質量に添加油脂由来の脂肪酸の影響が表れなかった理由として，Control にオリーブ油を用いたことも一要因であると考えられる。本研究では，リノール酸（C18:2）に対して同じ炭素数の脂肪酸であるオレイン酸（C18:1）が高含有のオリーブ油を選択した。近年オレイン酸の研究は盛んに行われている。特に脂質に関して，オレイン酸は多価不飽和脂肪酸に比べて過酸化脂質になりにくい脂肪酸であることが分かっている[25]。さらに，オレイン酸の摂取は HDL コレステロールの増加を促進し，LDL コレステロールおよび TG 量を抑えることが報告されている。

皮膚の脂肪酸組成において，リノール酸はベニバナ油の用量に応じて移行することが明

確になった。これまでリノール酸は皮膚に移行しやすい脂肪酸であることは及川らが報告している[26][27]。しかし皮膚中脂肪酸組成に関して経口摂取で0%から8%まで分割して調べたものはなく、脂質の一部を高リノール酸ベニバナ油に代替した実験は本研究が初めてである。リノール酸と同系列のn-6系脂肪酸に着目すると、皮膚中 γ -リノレン酸は油脂中リノール酸との関係性はなく、アラキドン酸に関してはほとんど検出されなかった。高リノール酸ベニバナ油の摂取の増加とともに皮膚中n-6系脂肪酸も有意に増加したが、そのほとんどがリノール酸に由来していることが分かった。n-6系脂肪酸は生体内でエイコサノイドに代謝されることが明らかになっており[9]、エイコサノイドの過剰産生はアレルギー作用をもたらすことが報告されている[6][14]。しかし本研究では、エイコサノイドの前駆物質であるアラキドン酸の皮膚中割合は非常に低く、ベニバナ油の脂肪酸はリノール酸として皮膚に蓄積していた。この要因を推察すると、リノール酸から γ -リノレン酸への代謝に関与する Δ^6 不飽和化酵素は律速酵素として働いており[9]、リノール酸の摂取が増加した場合でも γ -リノレン酸ならび下流への代謝は促進しないことが挙げられる。さらに皮膚の γ -リノレン酸およびアラキドン酸は蓄積できる量が決まっており余剰分はPGE₁、PGE₂、LTB₄などn-6系エイコサノイドへ代謝された可能性も考えられる。

結論として、日常食の一部の油脂をリノール酸高含有のベニバナ油に代替すると、脂質代謝関連の血中成分および皮膚の脂肪酸組成に顕著に影響を与えることが明らかとなった。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、御協力いただいた長崎県立大学古場一哲教授ならび食品化学研究室の皆様、長崎大学大学院水産・環境総合研究科環境科学専攻山下樹三裕教授並びに研究室の皆様および高リノール酸ベニバナ油を御提供くださった日清オイリオ株式会社から感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Boelsma E, Hendriks F.J.H and Roza L. (2001) Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. *Am J Clin Nutr*, 73(5):853-864.
- [2] Girolamo M.D, Skinner N.S, Hanley H.G and Saches R.G. (1971) Relationship of adipose tissue blood flow to fat cell size number. *Am J Physiol*, 220(4):932-937.
- [3] Nielsen SL and Larsen OA. (1973) Relationship of subcutaneous adipose tissue blood flow to thickness of subcutaneous tissue and total body mass. *Scand J Clin Lab Invest*, 31(4):383-388.
- [4] 厚生労働省 (2010) 日本人の食事摂取基準 p78-80.
- [5] 辻英明, 小西洋太郎 (2007) 食品学 食べ物と健康 p62, p63, p74, p65 講談社.
- [6] 木戸康博, 中坊幸弘 (2009) 基礎栄養学 p24, p78 講談社.
- [7] 杉田浩一, 平宏和, 田島眞, 安井明美 (2008) 日本食品大辞典 p527-544 医歯薬出版.
- [8] 菅野道廣 (2000) 「あぶら」は訴える 油脂栄養論 p16 講談社.

- [9] Gurr M.I, Harwood J.L and Frayn K.N . (2002) Lipid Biochemistry, p50 , p 77 Blackwell science Ltd.
- [10] 菅野道廣, 五十嵐脩, 板倉弘重, 澤田留美, 池田郁男, 近藤和雄, 石川俊次, 高田秀穂, 辻悦子 (1998) 脂肪酸栄養の現代的視点 p54, p55 光生館.
- [11] 及川大地 機能性脂肪酸による生体制御 - 皮膚における CLA の機能を中心として - (2007) 栄養生理研究会報 51(1)27-28.
- [12] 鹿取信 (1986) 炎症とプロスタグランディン - 炎症の黒子をあやつる スタンダードマッキンタイヤ社.
- [13] Andoh T and Kuraishi Y . (1998) Intradermal leukotriene B₄ , but not prostaglandin E₂ , induces itch-associated responses in mice. Eur J Pharmacol , 353(1) :93-96.
- [14] 奥山治美, 小林哲幸, 浜崎智仁 (1999) 油脂とアレルギー p26 学会センター関西.
- [15] Folch J, Lees M and Sloane-Stanley G.H . (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues . 226(1) :497-509.
- [16] Rouser G, Siakotos A.N and Fleischer S . (1966) Quantitative analysis of phospholipids by thin-layer chromatography and phosphorus analysis of spots. Lipids , 1 (1) :85-86.
- [17] Kamegai T, Kasai M and Ikeda I . (2001) Improved method for preparation of the methyl ester of conjugated linoleic acid. J Oleo Sci , 50(4) :237-241.
- [18] Romijn D, Wisemana S.A, Scheek L.M, Fouw de N.J and Tola A.V . (1998) A linoleic acid enriched diet increases serum cholesterol esterification by lecithin: cholesterol acyltransferase in meal-fed rats. Ann Nutr Metab , 42(4) :244-250.
- [19] Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y and Matsubara K . (1996) cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1) .Biochem Biophys Res Commun , 221(2) :286-289.
- [20] Hu E, Liang P and Spiegelman B.M . (1996) AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. J Biol Chem , 271(18) :10697-10703.
- [21] Scherer P.E, Williams S, Fogliano M, Baldini G and Lodish H.F . (1995) A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. J Biol Chem , 270 (45) :26746-26749.
- [22] Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T and Matsuzawa Y . (1999) Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. Biochem Biophys Res Commun , 257(1) :79-83.
- [23] Cnop M, Havel P.J, Utzschneider K.M, Carr D.B, Sinha M.K, Boyko E.J, Retzlaff B.M, Knopp R.H, Brunzell J.D and Kahn S.E . (2003) Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. Diabetologia , 46(4) :459-469.
- [24] Neschen S, Morino K, Rossbacher J.C, Pongratz R.L, Cline G.W, Sono S, Gillum M

- and Shulman G.I. (2006) Fish oil regulates adiponectin secretion by a peroxisome proliferator-activated receptor- α -dependent mechanism in mice. *Diabetes*, **55**(4): 924-928.
- [25] Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Lopez-Segura F and Lopez-Miranda J. (2007) The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res*, **51**(10):1199-208.
- [26] Oikawa D, Nakanishi T, Nakamura Y, Takahashi Y, Yamamoto T, Shiba N, Tobisa N, Takagi T, Iwamoto H, Tachibana T and Furuse M. (2003) Dietary CLA and DHA modify skin properties in mice. *Lipids*, **38**(6):609-614.
- [27] Oikawa D, Nakanishi T, Nakamura Y, Yamamoto T, Yamaguchi A, Shiba N, Iwamoto H, Tachibana T and Furuse M. (2005) Modification of skin composition by conjugated linoleic acid alone or with combination of other fatty acids in mice. *Br J Nutr*, **94**(2):275-281.