

牛乳・乳製品由来脂肪酸の抗肥満効果に関する研究

佐賀大学農学部生命機能科学科

教授 柳 田 晃 良

要 約

近年、食生活の欧米化や運動不足などにより、肥満、高脂血症、糖尿病、動脈硬化、高血圧などの生活習慣病が増加しており、その多くは過食、運動不足などを基盤とした肥満、とくに内臓脂肪の蓄積に起因している事が知られている。現在、日本人の約20%以上が肥満症である。その予防には食事中的機能性成分が有効であり、なかでも食事脂肪の量と質の役割が大きいことが知られている。

近年注目を集めている共役リノール酸 (Conjugated linoleic acid ; CLA) は鎖中に共役二重結合を持つリノール酸の位置・幾何異性体で、乳製品や肉製品に含まれている脂肪酸である。これまでに抗動脈硬化作用、抗肥満作用および抗ガン作用など多彩な生理作用が報告されている。しかしながら、マウスはCLAに過剰に高応答性を示すために、人における脂肪萎縮症に類似した症状を示すことが報告されている。本研究では、CLAのHyper-responderであるマウスにおける糖・脂質代謝に及ぼす影響の解明を行なった。

その結果、マウスにおける脂肪萎縮症様病態の発症は、CLA摂取により過剰に脂肪組織が減少するため、糖・脂質代謝に重要な脂肪組織由来ホルモン様物質であるアディポサイトカインが欠乏するためであることが示唆された。一方、CLA短期摂取では脂肪萎縮症様病態を発症させず、脂質低下作用を発揮することが確認された。また長期摂取においても、肝臓脂質低下作用を持つ脂肪酸であるドコサヘキサエン酸と同時摂取することにより、病態発症を改善できることが示された。今後CLAを安全に使用するためには、マウスにおける高応答性のメカニズムをより詳細に解明する必要があると考えられた。

キーワード：共役リノール酸、マウス、脂肪萎縮症、アディポサイトカイン

1. 序 論

近代日本において、食生活の欧米化がもたらした食事中への過剰な脂質の導入は、肥満をはじめとする様々な生活習慣病を惹起させ、今や医学領域のみならず社会経済的にも深刻な問題を引き起こしている。その改善策として食習慣の見直しが計られる中、食事中的脂肪の量だけでなく、質の重要性が認識されている。これまで、リノール酸 (18:2,n-6)、 α -リノレン酸 (18:3,n-3)、アラ

キドン酸 (20:4,n-6) などの多価不飽和脂肪酸は、生体機能の維持に非常に重要な役割を持つことが知られてきたが、エイコサペンタエン酸 (20:5,n-3) やドコサヘキサエン酸 (DHA,22:6,n-3) のような高度不飽和脂肪酸も、その特異な生理機能が注目され、生活習慣病に対する予防効果などが多数報告されてきた。これら多価不飽和脂肪酸の二重結合配置はシス型のペンタジエン構造を特徴とするが、近年、二重結合の間に飽和結合を一つしか持たない“共役二重結合”を有する脂肪酸、共役脂肪酸の生理作用が非常に注目を集めている。

自然界に存在する共役脂肪酸としては、リノール酸の共役型である共役リノール酸 (CLA) が最もよく知られている。CLAは、反芻動物の胃内において微生物由来イソメラーゼにより、リノール酸が生物学的水素添加反応を受けて生成されることから、ウシや羊などの肉中に多く見出され、牛乳で1g脂肪当たり5.5mg、練乳で7.0mg、アイスクリームで3.6mg、ナチュラルチーズで2.9~7.1mg、プロセスチーズで4.5~5.2mg、ヨーグルトで1.7~4.8mg程度含まれることが報告されている。ヒトでの食事からのCLA摂取量は、オーストラリアで約0.5~1.5g/日、欧米では0.2~0.3g/日、日本（女子大学生に対する研究）では0.2g/日程度との報告がある。

これまでに、CLAの栄養生理作用として、抗腫瘍・抗動脈硬化・抗アレルギー・抗糖尿病作用などの報告が世界中からなされ、本研究室でも抗肥満・抗高脂血症作用などを報告してきた。一方でマウスは、CLAに過剰に高応答性を示すために、人における脂肪萎縮症に類似した症状を示すことが報告されている。脂肪萎縮症とは、先天的もしくは後天的な要因により全身もしくは部分的に脂肪組織が消失することで、貯蔵場所を失った脂肪が肝臓に蓄積し、重度のインスリン抵抗性を併発する病態である。本研究では、CLAのHyper-responderであるマウスにおける糖・脂質代謝に及ぼす影響を検討することにより、CLAの生理作用メカニズムの解明を行った。

2. 実験方法

1) 食餌組成及び飼育方法

実験1：6週齢雄C57BL/6Jマウス（セアック吉富）にAIN-76組成に準じた基準食（ハイリノールサフラワー油6%）を1週間与え予備飼育を行った。その後、基準食もしくはCLA食（ハイリノールサフラワー油4%+CLA 2%）を与えた2群を設け(Table 1)、1週間飼育した。飼育期間終了後9時間絶食の後、心臓採血により屠殺を行い、血清、肝臓及び脂肪組織を摘出した。

実験2：6週齢雄C57BL/6Nマウス（九動株式会社）を粉末Chow食（CE-2、オリエンタル酵母）にて1週間の予備飼育後、AIN-76組成に準じた6%ハイリノールサフラワー油（Control群）、4%ハイリノールサフラワー油+2%CLA（CLA群）または3.5%ハイリノールサフラワー油+2%CLA+0.5%DHA（CLA+DHA群）を含む合成食をそれぞれ4週間与えた(Table5)。

Table 1. Fatty acid composition of experimental oils.

	HL-SAF	□□□-TG
	(Weight %)	
16:0	6.6	6.6
16:1	2.4	2.4
18:1	16.1	16.4
18:2	73.0	1.7
CLA (9c,11t)	-	32.2
(10t,12c)	-	33.1
(9c,11c)	-	1.2
(10c,12c)	-	1.1
(t,t)	-	2.8
18:3	0.5	-
20:0	0.3	-
20:1	0.2	-
Othres	0.9	2.6

HL-SAF, high linoleic safflower oil;

CLA-TG, triglyceride-form conjugated linoleic acid

Table 5. Composition of experimental diets.

	Control	CLA	CLA+DHA
	(weight %)		
Casein	20	20	20
Dextrinized cornstarch	13.2	13.2	13.2
Sucrose	10	10	10
Cellulose	5	5	5
Mineral Mixture (AIN-93G)	3.5	3.5	3.5
Vitamin Mixture (AIN-93)	1	1	1
L-Cystein	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25
Safflower oil ¹	6	4	3.5
CLA ²	-	2	2
DHA ³	-	-	0.5
tert-Butylhydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014
Cornstarch	40.7486	40.7486	40.7486

¹ Contained 73.0 % linoleic acid

² Contained 35.6 % 9c,11t-CLA and 36.9 % of 10t,12c-CLA

³ Contained 94.8 % DHA

2) 血清脂質濃度及び血糖値の測定

実験1では、ゲル濾過HPLC法（スカイライト・バイオテック）により、リポ蛋白質画分の脂質分析（トリグリセリドおよびコレステロール）を行った。実験2では、血清脂質濃度は酵素法により測定した。即ち、血清トリグリセリド濃度は、トリグリセライドE-テストワコー（GPO・DAOS法、和光純薬）、血清コレステロール濃度は、コレステロールE-テストワコー（コレステロールオキシダーゼ・DAOS法、和光純薬）を用いて測定した。

血糖値は、グルコースCII-テストワコー（和光純薬）を用いてムタロターゼ・GOD法により測定した。

3) 血清インスリン、レプチンおよびアディポネクチン濃度の測定

血清中のインスリン、レプチン及びアディポネクチン濃度は、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)により測定した（mouse Insulin ELISA kit・シバヤギ、mouse Leptin ELISA kit・森永生化学研究所、mouse Adiponectin ELISA kit・大塚製薬）。

4) 肝臓脂質の分析

肝臓総脂質はFolchらの方法により抽出・濃縮し、肝臓TG濃度はFletcher法（Fletcher, MJA., Clin. Chim. Acta, 1968; 22: 393-397.）で定量した。肝臓総コレステロール濃度は、コレステロールE-テストワコー（和光純薬）を用いてコレステロールオキシダーゼ・DAOS法により測定した。肝臓遊離コレステロール濃度は、遊離コレステロールE-テストワコー（和光純薬）を用いてコレステロールオキシダーゼ・DAOS法により測定した。肝臓脂質の脂肪酸組成は、ガスクロマトグラフィー（島津製作所）により測定を行った。

5) 肝臓脂質代謝関連酵素活性の測定

肝臓の各細胞核分の調製は、以下の通り行った。肝臓約2gを氷冷下で6倍容の0.25M Sucrose, 1mM EDTA, 10mM Tris-HCl buffer (pH7.4)でホモジナイズ後、700×gで10分間遠心分離した上清を、さらに10,000×gで10分間遠心分離することにより、ミトコンドリア画分を沈殿させた。その上清を125,000×g, 60分間超遠心分離し、上清のサイトソル画分と沈殿したマイクロソーム画分を得た。各画分のタンパク質量はLowry法（Lowry, OH., et al., J. Biol. Chem., 1951; 193: 265-275.）により測定した。

脂肪酸合成の律速酵素である脂肪酸合成酵素（FAS）活性は、Kellyらの方法（Kelley, DS., et al., Biochem. J., 1986; 235: 87-90.）に従い、サイトソル画分を用いて測定を行った。脂肪酸が合成系にNADPHを供給するグルコース6リン酸脱水素酵（G6PDH）及びリンゴ酸酵素（ME）の活性は、Kellyらの方法（Kelley, DS., et al., Biochem. J., 1984; 217: 543-549.）及びOchoa（Ochoa, S., Methods in Enzymology, 1955; 1: 739-753.）らの方法に従い、サイトソル画分を用いて測定を行った。脂肪酸β酸化系の律速酵素であるカルニチンパルミトイル転移酵素（CPT）活性は、Markwellらの方法（Markwell, MA., et al., J. Biol. Chem., 1973; 248: 3433-3440.）に、ペルオキシソームにおける脂肪酸β酸化活性はLazarowの方法（Lazarow, PB., Methods in Enzymology, 1981; 72: 315-319.）にそれぞれ従い、ミトコンドリア画分を用いて測定を行った。トリグリセリド合成関連酵素であるジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ（DGAT）活性は、Colemanの方法（Coleman, R., J. Biol. Chem., 1976; 251: 4537-4543.）に従い、マイクロソーム画分を用いて測定を行った。

6) 肝臓におけるmRNA発現測定

マウスの肝臓から、TRIzol Reagent (Invitrogen)を用いて、Total RNAを抽出した。Real-time RT-PCR測定は、TaqMan Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems)を用いてcDNA templateを作成し、TaqMan(r) Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)、 Assays-on-Demand™, Gene Expression Products (Mm00662319_m1 : fatty acid synthase (FAS)、 Mm00486279_m1 : acyl-CoA:cholesterol acyltransferase-1 (ACAT-1)、 Hs99999901_s1 : 18S RNA、 Applied Biosystems) および TaqMan(r) MGB Gene Expression Kits (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase : forward primer, 5'-AGTGATTGTGTCAGTATTATTGTGGAAG-3'; reverse primer, 5'-GGTACTGGCTGAAAAGTCACAAGAG-3'; TaqMan(r) MGB probe, 5'-FAM-TTGCTGTTGTATGTAAAGT-MGB-3') を用いて、ABI Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems) により遺伝子特異的増幅を検出した。

7) 統計解析

実験によって得られたデータは、Student's T-testおよびDuncan's multiple range testを用いて有意差検定を行った。

3. 結果

1) 実験1：マウスの成長および脂肪組織重量へのCLA短期摂取の影響

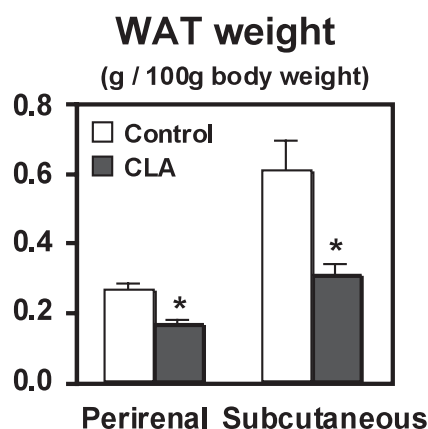
飼育期間中、摂食量および体重増加量に群間で認められなかった。CLAの短期摂取においては、マウスの肝臓重量にも影響を与えなかった (Table2)。一方で、短期摂取においても内蔵脂肪含量はCLA摂取群で有意に減少した (Fig1)。

Table 2. Growth parameters of C57BL/6J mice after 1 wk of feeding.

	Control	CLA
Final body weight (g)	17.6±0.5	17.7±0.4
Total food intake (g)	15.4±0.3	14.9±0.7
Liver weight (g/100g BW)	4.33±0.11	4.41±0.14

Values are expressed as mean± standard error of six mice.

FIG. 1. Effect of dietary fatty acids on white adipose tissue (WAT) weights.



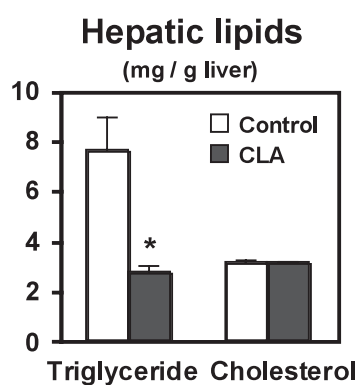
Mice were fed semi-synthetic diets containing either 6% HL-SAF or 4 HL-SAF + 2% CLA for 1 wk. Values are expressed as mean \pm standard error of six mice. See Table 1 for composition of diets.

Asterisks show significant difference at $p < 0.05$.

2) 実験1：マウスの肝臓脂質濃度へのCLA短期摂取の影響

CLA高含有飼料でマウスを長期間飼育すると、肝臓肥大と共に脂肪の蓄積が報告されていたが、CLA短期摂取ではトリグリセリド濃度においてむしろ低下作用が認められた (Fig2)。コレステロール濃度には影響が認められなかった。

FIG. 2. Effect of dietary fatty acids on the concentrations of hepatic lipids.



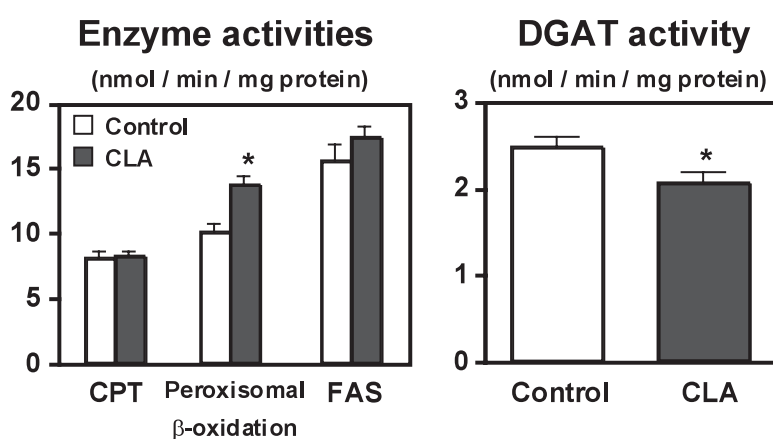
Mice were fed semi-synthetic diets containing either 6% HL-SAF or 4 HL-SAF + 2% CLA for 1 wk. Values are expressed as mean \pm standard error of six mice. See Table 1 for composition of diets.

Asterisk shows significant difference at $p < 0.05$.

3) 実験1：マウス肝臓の脂質代謝酵素活性へのCLA短期摂取の影響

肝臓のトリグリセリド濃度低下作用のメカニズムを知るために、脂質代謝関連酵素活性を測定した。ミトコンドリアにおける脂肪酸 β 酸化系の律速酵素であるCPT活性には群間で差が認められなかったが、極長鎖脂肪酸の β 酸化を行うペルオキシソームの β 酸化活性は、CLA群で有意な上昇が認められた。一方、脂質合成系では、脂肪酸合成酵素活性には群間で差が認められなかったが、トリグリセリド合成に参与するDGAT活性がCLA摂取により有意に低下していた。

FIG. 3. Effect of dietary fatty acids on the activities of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase (CPT), peroxisomal β -oxidation, cytosolic fatty acid synthase (FAS) and microsomal diacylglycerol acyltransferase (DGAT) in the liver of C57BL/6J mice.



Mice were fed semi-synthetic diets containing either 6% HL-SAF or 4 HL-SAF + 2% CLA for 1 wk. Values are expressed as mean \pm standard error of six mice. See Table 1 for composition of diets.

Asterisks show significant difference at $p < 0.05$.

4) 実験1：マウス肝臓の脂肪酸組成へのCLA短期摂取の影響

これまでの報告において、CLAには脂肪酸 $\Delta 9$ 不飽和化を抑制する作用があることが報告されてきたが、本実験における短期摂取においてもモノ不飽和脂肪酸含量の低下が示された。また肝臓脂質中に9c,11t型異性体および10t,12c型異性体を取り込まれていることも確認された。

Table 3. Fatty acid composition of hepatic total lipids in C57BL/6J mice after 1 wk of feeding.

	Control	CLA
	% of total	
14:0	0.380±0.024	0.303±0.036
16:0	25.9±0.2	25.4±0.2
16:1	1.72±0.13	0.863±0.055 *
18:0	13.0±0.8	18.2±0.3 *
18:1 n-7	1.82±0.10	1.73±0.06
18:1 n-9	11.4±0.7	8.67±0.42 *
18:2 n-6	23.2±0.9	15.8±0.2 *
9c,11t-CLA	n.d.	0.623±0.036
10t,12c-CLA	n.d.	0.384±0.020
18:3 n-6	0.415±0.024	0.197±0.006 *
20:3 n-6	0.779±0.094	0.650±0.033 *
20:4 n-6	13.3±0.6	14.7±0.1
22:4 n-6	0.445±0.042	0.961±0.040 *
22:5 n-3	n.d.	0.257±0.008
22:5 n-6	0.587±0.042	3.57±0.19 *
22:6 n-3	7.07±0.37	7.87±0.33

Values are expressed as mean± standard error of six mice.

Asterisks show significant difference at $p < 0.05$.

5) 実験1：マウスの血清脂質、グルコース、インスリン、レプチンおよびアディポネクチン濃度へのCLA短期摂取の影響

肝臓から分泌される超低密度リポ蛋白質（VLDL）および低密度リポ蛋白質（LDL）中のトリグリセリド濃度は、CLA摂取により顕著な低下が認められた。また動脈硬化の危険因子であるVLDLおよびLDL中のコレステロール濃度においても、CLA摂取により有意な低下が認められた。一方で、抗動脈硬化に働く高密度リポ蛋白質（HDL）中のコレステロール濃度は、CLA摂取により低下することはなかったので、HDL/VLDL+LDLで算出される抗動脈硬化指数はCLA群で有意に高い値を示した。

血清中のグルコース及びインスリン濃度は、CLAの短期摂取では影響が認められなかった。一方、インスリン感受性に関与する脂肪組織由来ホルモン様物質：アディポサイトカイン（レプチン及びアディポネクチン）は、CLA短期摂取により劇的な減少が認められた。CLA摂取による脂肪組織の消失がCLA短期摂取に対する初期応答として認められるのと同時に、アディポサイトカインの減少も摂取初期から引き起こされていることが確認された。よって、より長期のCLA摂取は、マウスにおける脂肪萎縮症様病態誘発の原因となりうることが示唆された。

Table 4. Serum parameters of C57BL/6J mice after 1 wk of feeding.

	Control	CLA
VLDL-TG (mg/dl)	23.3±2.9	5.92±0.89 *
LDL-TG (mg/dl)	18.6±0.6	7.16±0.89 *
HDL-TG (mg/dl)	0.755±0.068	0.617±0.037
VLDL-Cholesterol (mg/dl)	4.86±0.56	2.78±0.41 *
LDL- Cholesterol (mg/dl)	16.3±1.1	10.7±0.9 *
HDL- Cholesterol (mg/dl)	83.4±1.5	89.9±4.9
Glucose (mg/dl)	210±24	208±25
Insulin (pg/ml)	150±31	94.7±51.7
Adiponectin (µg/ml)	22.4±1.2	6.70±0.27 *
Leptin (pg/ml)	427±228	32.7±12.1 *

Values are expressed as mean± standard error of six mice.

Asterisks show significant difference at $p < 0.05$.

6) 実験2：マウスの成長および脂肪組織重量への実験食摂取の影響

4週間の実験食摂取は、摂食量及び体重増加量に群間で差がないにもかかわらず、CLA摂取群で肝臓重量の有意な増加が認められた。しかしながら、CLA食に脂質低下作用を持つDHAを添加した食事では、肝臓肥大を改善することが示された。脂肪組織重量においては、皮下及び内蔵脂肪共にCLA摂取による顕著な減少が認められ、DHA添加による影響は認められなかった。

Table 6. Growth parameters of C57BL/6N mice after 4 wk of feeding.

	Control	CLA	CLA+DHA
Final body weight (g)	21.9±0.6	21.9±0.5	22.3±0.3
Food intake (g)	69.8±2.2	69.8±2.1	69.1±2.2
Liver weight (g/100g BW)	4.02±0.12 ^a	5.70±0.33 ^b	5.01±0.35 ^b
Adipose tissue weight (g/100g BW)			
Total	4.23±0.43 ^a	1.36±0.09 ^b	1.62±0.05 ^b
Abdominal	2.95±0.29 ^a	1.12±0.08 ^b	1.31±0.04 ^b
Epididymal	1.46±0.17 ^a	0.242±0.031 ^b	0.270±0.023 ^b
Perirenal	0.506±0.070 ^a	0.160±0.016 ^b	0.170±0.026 ^b
Omental	0.981±0.065 ^a	0.722±0.065 ^b	0.866±0.039 ^{ab}
Subcutaneous	1.28±0.14 ^a	0.236±0.010 ^b	0.316±0.018 ^b

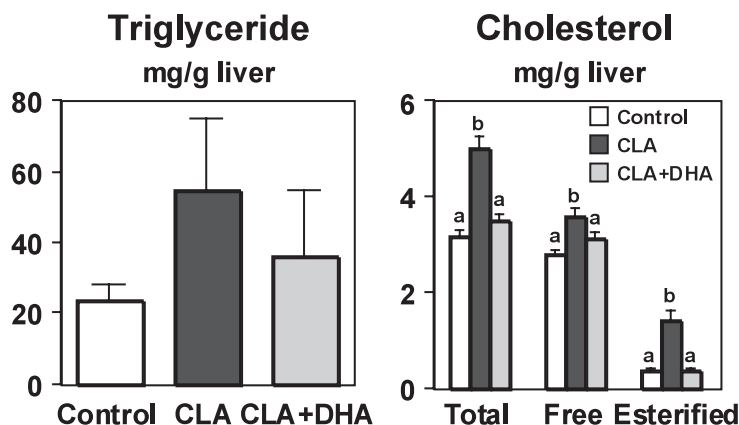
Values are expressed as mean± standard error for six mice.

Different superscript letters show significant differences at $p < 0.05$.

7) 実験2：マウスの肝臓脂質濃度への実験食摂取の影響

肝臓肥大が認められたCLA摂取群では、トリグリセリドおよびコレステロール濃度の顕著な上昇が認められ、脂質蓄積による脂肪肝の発症が認められた。しかしながら、CLA+DHA食では顕著な改善が認められ、DHAの脂質低下作用がCLA摂取による脂肪肝誘発を抑制できることが示された。

FIG. 4. Effect of dietary fatty acids on the concentrations of hepatic lipids.



Mice were fed semi-synthetic diets that contained either 6% HL-SAF, 4 HL-SAF + 2% CLA, or 3.5% HL-SAF + 2% CLA + 0.5% DHA for 4 wk. Values are expressed as mean \pm standard error for six mice. See Materials and Methods for the composition of diets. Different letters show significant differences at $p < 0.05$.

8) 実験2：マウスの血清脂質、インスリン、レプチンおよびアディポネクチン濃度への実験食摂取の影響

血清のトリグリセリド濃度は、CLA摂取で顕著に低下しDHA添加による影響は認められなかった。一方、血清コレステロール濃度はCLA摂取で顕著に増加していたが、DHA添加により対照食レベルまで低下させられることが示された。

血清インスリン濃度は、CLA摂取で顕著に増加しインスリン抵抗性の発症が認められた。しかしながらDHA添加による改善効果は認められなかった。血清中のアディポサイトカイン濃度の測定の結果、レプチン及びアディポネクチンともにCLA摂取で顕著に低下し、DHA添加による影響は認められなかった。

Table 7. Serum parameters of C57BL/6N mice after 4 wk of feeding.

	Control	CLA	CLA+DHA
Triglyceride (mg/dl)	49.8±7.3 ^a	21.6±0.9 ^b	24.9±2.5 ^b
Cholesterol (mg/dl)	110±4 ^a	151±6 ^b	106±5 ^a
Insulin (pg/ml)	737±187	966±196	952±140
Adiponectin (µg/ml)	28.7±1.1 ^a	3.85±0.214 ^b	4.83±0.12 ^b
Leptin (pg/ml)	1520±425 ^a	168±82 ^b	173±76 ^b

Values are expressed as mean± standard error for six mice.

Different superscript letters show significant differences at $p < 0.05$.

9) 実験2：マウス肝臓の脂質代謝酵素活性への実験食摂取の影響

脂肪肝を発症していたCLA摂取群では、FASおよびMEといった脂肪酸合成系の酵素活性を上昇させていたが、病態に改善の認められたDHA添加群では顕著な活性抑制が認められた。CPTやペルオキシソームβ酸化活性はCLA群で上昇し、DHA添加による影響は認められなかった。

Table 8. Activities of hepatic enzymes-related to lipid metabolism in C57BL/6N mice.

	Control	CLA	CLA+DHA
(nmo/min/mg protein)			
FAS	7.91±0.96 ^a	18.1±1.2 ^b	8.73±0.53 ^a
Malic enzyme	108±13 ^a	733±94 ^b	217±11 ^a
G6PDH	11.8±1.2 ^a	11.8±1.4 ^a	7.29±0.53 ^b
CPT	7.38±0.42 ^a	10.2±0.2 ^b	7.96±0.42 ^a
Peroxisomal β-oxidation	12.2±1.4 ^a	18.1±0.8 ^b	19.7±0.8 ^b

Values are expressed as mean± standard error for six mice.

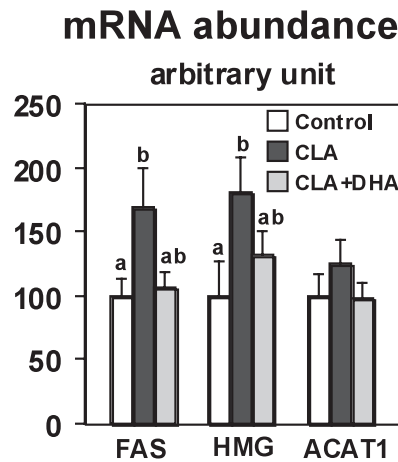
Different superscript letters show significant differences at $p < 0.05$.

FAS, fatty acid synthase; G6PDH, glucose 6-phosphate dehydrogenase; CPT, carnitine palmitoyltransferase

10) 実験2：マウス肝臓におけるmRNA発現への実験食摂取の影響

肝臓におけるFAS、HMG-CoA還元酵素やACATの様な脂質貯蔵系酵素のmRNA発現は、CLA摂取で顕著に増加していたが、DHA添加により対照食レベルまで低下させられることが示された。

FIG. 5. Effect of dietary fatty acids on the expression of mRNAs related to lipid metabolism in the liver of C57BL/6N mice.



Mice were fed semi-synthetic diets that contained either 6% HL-SAF, 4% HL-SAF + 2% CLA, or 3.5% HL-SAF + 2% CLA + 0.5% DHA for 4 wk. Values are expressed as mean \pm standard error for six mice. See Materials and Methods for the composition of diets.

Different letters show significant differences at $p < 0.05$.

FAS, fatty acid synthase; ACAT1, acyl-CoA:cholesterol acyltransferase-1; HMG, 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase.

4. 結論

1) 実験1：小括

本研究では、CLAの短期摂食がマウスの脂肪組織重量および脂質代謝に及ぼす影響を検討した。6%ハイリノールサフラワー油（対照食）もしくは4%ハイリノールサフラワー油+2%CLA（CLA食）を添加した食餌で雄性C57BL/6Jマウスを1週間飼育した。その結果、CLA食は脂肪組織重量を低下させ、短期摂食でも抗肥満作用を発揮することが示された。CLA食短期摂取は肝臓重量に影響を及ぼさず、肝臓トリグリセリド濃度の低下および脂肪酸の $\Delta 9$ 不飽和化抑制をもたらした。肝臓トリグリセリド濃度の低下には、トリグリセリド合成に参与するdiacylglycerol acyltransferaseの活性抑制および脂肪酸のペルオキシソーム β 酸化亢進が寄与していると考えられた。超低密度リポタンパク質および低密度リポタンパク質中のトリグリセリドおよびコレステロール濃度は、CLA食により有意に低下した。一方で、血清中のレプチンおよびアディポネクチン濃度がCLA食により低下してお

り、より長期のCLA摂取におけるリポジストロフィー様病態誘発の原因となりうることが示唆された。これらの結果から、C57BL/6Jマウスにおいて、短期摂食ではCLAによる副作用は引き起こされないことが示された。

2) 実験2：小括

本研究では、CLA摂取により誘発されるマウスの脂肪肝にDHA添加が及ぼす影響を検討した。6%ハイリノールサフラワー油（対照食）、4%ハイリノールサフラワー油+2%CLA（CLA食）、もしくは3.5%ハイリノールサフラワー油+2%CLA+0.5%DHA（CLA+DHA食）を添加した食餌で雄性C57BL/6Nマウスを4週間飼育した。その結果、CLA食は脂肪組織重量の低下と同時に脂肪肝を発症させたが、0.5%DHA添加により改善作用が認められた。CLA摂取による肝臓トリグリセリド濃度の増加には、脂肪酸合成系の亢進が寄与していると考えられ、DHA添加食ではそれら酵素活性上昇の抑制が認められた。一方で、CLA食により血清中のレプチンおよびアディポネクチン濃度が顕著に低下し、これらがリポジストロフィー様病態を引き起こす原因であると考えられたが、DHA添加によるアディポサイトカイン濃度への影響は認められなかった。これらの結果から、C57BL/6Nマウスにおいて、DHA添加はCLA誘発性脂肪肝を改善させたが、アディポサイトカイン産生調節とは独立して、肝臓の脂肪酸合成系を抑制するためであると示唆された。

3) 総括

その結果、マウスにおける脂肪萎縮症様病態の発症は、CLA摂取により過剰に脂肪組織が減少するために、糖・脂質代謝に重要な脂肪組織由来ホルモン様物質：アディポサイトカインが欠乏するためであることが示唆された。しかしながら短期摂食では脂肪萎縮症様病態を発症させず、脂質低下作用を発揮することが確認された。また長期摂食においても、肝臓脂質低下作用を持つ脂肪酸である。ドコサヘキサエン酸と同時摂取することにより、病態発症を改善できることが示された。今後CLAを安全に使用するためには、マウスにおける高応答性のメカニズムをより詳細に解明する必要があると考えられた。