

# 牛乳・乳製品に含まれる共役リノール酸の抗肥満効果

佐賀大学農学部食品栄養化学教室教授 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%が肥満症であるという報告もあり、その予防として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認められている。

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、乳製品や肉製品に比較的多く含まれている脂肪酸である。既に抗動脈硬化作用、抗肥満作用および抗ガン作用など報告されているが、その作用機序は十分明らかにされていない。本研究では、脂質代謝の重要な機構であるリポタンパク質代謝への影響や、脂肪組織における遺伝子の発現プロファイリングを通して、生理作用のメカニズム解明を行なった。

その結果、肥満モデルOLETFラットにおいて、CLAの異性体のうち10trans,12cis型が肥満抑制作用と脂質低下作用の活性本体であることが示された。リポタンパク質代謝においてそのトリグリセリド低下作用は、肝臓からの超低密度リポタンパク質分泌段階からの抑制作用が示唆された。またコレステロール逆転送系に關与する高密度リポタンパク質濃度を上昇させることにより抗動脈硬化作用を示すことが示唆された。脂肪細胞における遺伝子発現プロファイリングにおいては、脂肪細胞特異的に発現する転写産物の同定が急務であることが示された。

キーワード：共役リノール酸、肥満モデルOLETFラット、高脂血症、内蔵肥満、リポタンパク質代謝

## 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、食事中の脂肪の量だけではなく、質の重要性が再認識されている。これまで、リノール酸 (18 : 2, n-6)、 $\alpha$ -リノレン酸 (18 : 3, n-3)、アラキドン酸 (20 : 4, n-6)、エイコサペンタエン酸 (20 : 5, n-3) やドコサヘキサエン酸 (22 : 6, n-3) 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明らかになり、生活

習慣病に対する予防効果も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。一方近年、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（図1）。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（図2）、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。また、CLAには共役二重結合の位置および幾何型（c:シス、t:トランス）の違いにより数十種類の異性体が見出されているが、食品中に含まれる主なCLAは9c,11t-CLAである。一方、研究用やサプリメントとして供給されているCLAはリノール酸のアルカリ異性化によって合成されており、9c,11t-CLAと10t,12c-CLAが同程度含まれている。

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、著者らの研究室でも抗肥満・抗高脂血症作用などを報告してきた。しかしながら、これらCLAの栄養生理作用のメカニズムについては、未だ未解明の点を多く残している。本研究では、脂質代謝の重要な機構であるリポタンパク質代謝への影響や、脂肪組織中における遺伝子の発現プロファイリングを通して、生理作用のメカニズム解明を目指す。

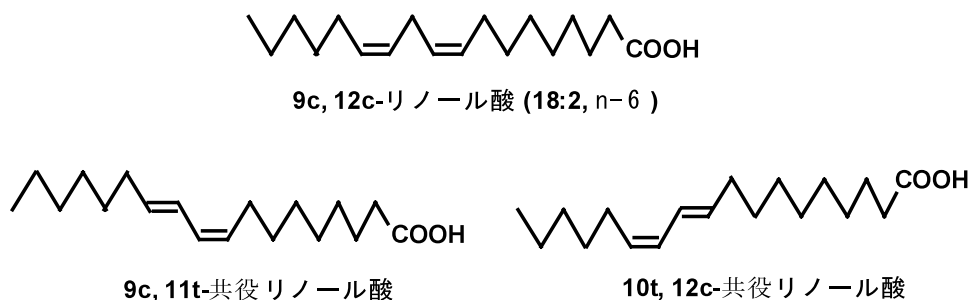


図1 リノール酸と共役リノール酸異性体

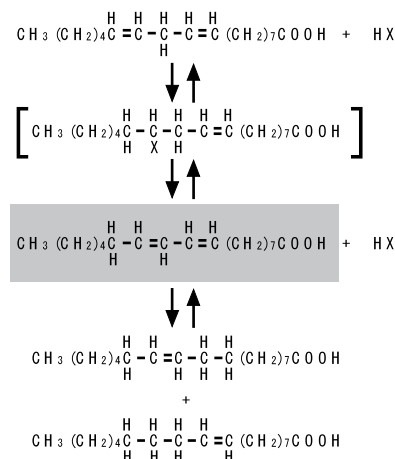


図2 *Butyrivibrio fibrisolvens* によるリノール酸の生物学的水素添加反応

## 実験方法

### [ 食餌組成及び飼育方法 ]

4週齢の雄性Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF)ラット(大塚製薬株式会社)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、試料として共役リノール酸(CLA)異性体(大阪市立工業研究所から供与)を用い実験を行った。

実験食としてAIN-76組成を基準として、サフラワー油10%を含むNormal食(Control群)、サフラワー油9%+9c,11t-CLA油1%を含む食餌(9ct-CLA群)、サフラワー油9%+10t,12c-CLA油1%を含む食餌(10tc-CLA群)を調製した(Table 1)。また、肥満モデルOLETFラットの対照として、同週齢の非肥満Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO)ラットにNormal食を与えて飼育した。以上の4群を2週間飼育し、9時間絶食後、麻酔下で屠殺を行い、肝臓及び脂肪組織を摘出した。血液から血清を得た。動物実験は佐賀大学動物実験委員会の指針にもとづいて行なった。

### [ 血清脂質濃度及び血糖値の測定 ]

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)、血清リン脂質濃度は、リン脂質E-テストワコー(コリンオキシダーゼ・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)、血清遊離脂肪酸濃度は、NEFA C-テストワコー(ACS・ACOD法、和光純薬)を用いて測定した。

また、ゲル濾過HPLC法(スカイライト・バイオテック)により、リポタンパク質画分の脂質分析を行った。

### [ 血清グルコース、インスリンおよびレプチン濃度の測定 ]

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。血清中のインスリン及びレプチン濃度は、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay（ELISA）により測定した（rat Insulin ELISA kit・森永生化学研究所、rat Leptin ELISA kit・矢内原研究所）。

### [ 肝臓脂質濃度の測定 ]

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、肝臓リン脂質濃度はBartlettらの方法で定量した。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。

### [ 脂肪組織における遺伝子発現プロファイリング ]

OLETFラットの内蔵脂肪組織から、TRIzol Reagent（Invitrogen）を用いて、Total RNAを抽出した。Serial Analysis of Gene Expression（SAGE）解析は、I-SAGE kit（Invitrogen）を用いて発現遺伝子由来の17 bp Sequence Tagsを作成し、数珠状につないだTagをpZErO-1 vectorに組み込んで大腸菌に導入し、Zeocin耐性寒天培地上に生育したポジティブコロニーを選んでplasmidを精製した。精製した各plasmid中のクローニングサイトのDNA塩基配列は、シングルパスシーケンス（日立計測器サービス）により塩基配列の解析を行った。得られたシーケンスデータは、米国National Institute of Healthが保有するデータベース（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE>）とのマッチングにより同定を行った。

### [ 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。

## 結 果

### [ ラットの成長、臓器重量へのCLA異性体の影響, Table 2 ]

OLETFラットは、同週齢のLETOラットに比べ初体重、摂食量、終体重の全てにおいて高い値を示した。OLETFラットにおいて、Pair feedingを行ったためCLA異性体による影響は認められなかった。臓器重量に関しては、LETOラットに比べOLETFラットで肝臓重量と内蔵白色脂肪組織重量が増加していた。しかしながら、10t,12c-CLA摂食群では、内蔵脂肪の蓄積を顕著に抑制することが示された。

### **[ ラットの血清脂質、グルコース、インスリンおよびレプチン濃度へのCLA異性体の影響, Table 3 ]**

血清のトリグリセリド、リン脂質濃度は、LETOラットに比べOLETFラットで高い値を示した。OLETFラットにおいては、10t,12c-CLA摂食群でトリグリセリド濃度が低下し、リン脂質濃度が増加した。一方血清コレステロール濃度は、LETOラットに比べOLETFラットで低い値を示した。OLETFラットにおいては、10t,12c-CLA摂食群で有意に増加した。遊離脂肪酸、グルコース、インスリン及びレプチン濃度には、群間で有意差は認められなかった。

### **[ ラットの肝臓脂質濃度へのCLA異性体の影響, Table 4 ]**

肝臓のトリグリセリド、コレステロール濃度は、自由摂食させたLETOラットに比べ制限給餌したOLETFラットで低い値を示した。OLETFラットにおいては、トリグリセリド濃度が10t,12c-CLA摂食群で有意に低下した。

### **[ ラットのリポタンパク質脂質濃度へのCLA異性体の影響, Table 5 & 6 ]**

各リポタンパク質画分中のトリグリセリド濃度は、全ての画分においてLETOラットに比べOLETFラットで増加が認められた。OLETFラットにおいては、全ての画分において10t,12c-CLA摂食群で低い値を示した。

各リポタンパク質画分中のコレステロール濃度は、HDL画分においてLETOラットに比べOLETFラットで低い値を示した。一方、OLETFラットにおいては、10t,12c-CLA摂食群でHDL画分の増加が認められた。

### **[ ラットのリポタンパク質サイズへのCLA異性体の影響, Table 7 ]**

リポタンパク質粒子のサイズに関して、VLDL画分においてLETOラットとOLETFラットでは差が認められなかった。

### **[ ラットの脂肪組織における遺伝子発現プロファイリングへのCLA異性体の影響, Table 8 ]**

肥満抑制作用と脂質低下作用が認められた10t,12c-CLA摂食群について、Control群を対照として遺伝子発現プロファイリングを行った。それぞれ、450クローンずつDNA塩基配列解析を行い、2655種類の転写産物について12512個（Control群）と12234個（10t,12c-CLA群）のsequence tagを検出した。しかしながら、転写産物の高発現上位50種（3595 tags）のうち、14種（1499 tags）について未同定のsequence tagであった。また未同定のsequence tagは、全部で683種あった。これらは、SAGE mapに登録されていない脂肪組織特異的に発現している転写産物群であると考えられるため、今後はsequence tagをプローブとしてcDNAをクローニングし、転写産物の同定を行う予定である。

## 結 論

本実験により、CLAの抗肥満・脂質低下作用の活性本体が10t,12c-CLA異性体であることが確認され、そのリポタンパク質代謝に及ぼす影響を検討した。その結果、全てのリポタンパク質画分において10t,12c-CLA摂取によりトリグリセリド濃度の低下作用が認められたことから、肝臓からのリポタンパク質分泌の時点から抑制がかかっている可能性が示唆された。また、コレステロール濃度については、10t,12c-CLA 摂取によるTotalコレステロール濃度の上昇は、コレステロール逆転送に關与するHDL画分コレステロールの上昇に起因することが見い出され、抗動脈硬化作用も期待されることが示唆された。脂肪細胞における遺伝子発現プロファイリングにおいては、脂肪細胞特異的に発現する転写産物の同定が急務であることが示された。

Table 1. Composition of experimental diets

	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
Casein	200	200	200
Cornstarch	150	150	150
Cellulose	50	50	50
Mineral mixture (AIN-76)	35	35	35
Vitamin mixture (AIN-76)	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2
DL-Methionine	3	3	3
Safflower oil	100	90	90
9c,11t-CLA <sup>a</sup>	0	10	0
10t,12c-CLA <sup>b</sup>	0	0	10
Sucrose	450	450	450

<sup>a</sup> Contained different isomers: 92.7% of 9c,11t; 5.8% of 10t,12c; 0.4% of 9c,11c/10c,12c; and 1.0% of 9t,11t/10t,12t.

<sup>b</sup> Contained different isomers: 3.5% of 9c,11t; 89.0% of 10t,12c; 4.0% of 9c,11c/10c,12c; and 3.4% of 9t,11t/10t,12t.

Table 2. Effect of experimental diet on growth parameters in LETO and OLETF rats

	LETO	OLETF		
	Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
Initial BW (g)	199±2	242±3*	241±3	241±3
Final BW (g)	274±5	313±3*	309±2	313±3
BW gain (g)	75.6±3.7	71.0±3.8	68.5±2.9	72.4±1.9
Food intake (g)	250±7	264±1*	264±1	264±2
Food efficiency (g gain/g intake)	0.314±0.007	0.269±0.015*	0.259±0.011	0.274±0.006
Liver (g/100g BW)	3.79±0.06	3.86±0.10 <sup>a</sup>	3.92±0.06 <sup>ab</sup>	4.11±0.07 <sup>b</sup>
Kidney (g/100g BW)	0.650±0.012	0.763±0.008	0.783±0.017	0.771±0.008
Testis (g/100g BW)	1.09±0.02	0.923±0.019	0.861±0.013	0.902±0.019
Heart (g/100g BW)	0.323±0.005	0.321±0.006	0.323±0.007	0.331±0.005
Adipose tissue weight (g/100g BW)				
Total	6.00±0.33	7.09±0.25* <sup>a</sup>	7.38±0.22 <sup>a</sup>	5.95±0.12 <sup>b</sup>
Abdominal	3.58±0.20	4.34±0.15* <sup>a</sup>	4.51±0.12 <sup>a</sup>	3.47±0.08 <sup>b</sup>
Perirenal	1.65±0.10	2.10±0.06* <sup>a</sup>	2.20±0.08 <sup>a</sup>	1.56±0.04 <sup>b</sup>
Epididymal	1.17±0.06	1.27±0.06 <sup>a</sup>	1.37±0.05 <sup>a</sup>	1.05±0.03 <sup>b</sup>
Omental	0.763±0.039	0.970±0.036*	0.941±0.047	0.863±0.026
Subcutaneous	2.42±0.14	2.76±0.12 <sup>ab</sup>	2.86±0.11 <sup>a</sup>	2.48±0.05 <sup>b</sup>

Each value represents mean ± SE.

\*  $P < 0.05$  LETO control vs. OLETF control

<sup>ab</sup> Different superscript letters show significant difference at  $P < 0.05$  in OLETF rats

Table 3. Effect of experimental diet on serum parameters in LETO and OLETF rats

	LETO	OLETF		
	Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
Triglyceride (mg/dl)	43.6±2.5	89.1±9.8* <sup>ab</sup>	100±7 <sup>a</sup>	71.1±3.3 <sup>b</sup>
Phospholipid (mg/dl)	164±5	187±5* <sup>a</sup>	197±8 <sup>a</sup>	223±5 <sup>b</sup>
Total cholesterol (mg/dl)	116±5	109±3* <sup>a</sup>	119±3 <sup>b</sup>	143±2 <sup>c</sup>
NEFA (mEq/l)	0.356±0.016	0.387±0.019	0.369±0.032	0.347±0.026
Glucose (mg/dl)	187±5	180±5	187±5	194±6
Insulin (ng/ml)	2.06±0.53	2.36±0.29	3.26±1.10	3.39±0.11
Leptin (ng/ml)	0.588±0.061	0.789±0.020	0.812±0.079	0.752±0.065

Each value represents mean ± SE.

\*  $P < 0.05$  LETO control vs. OLETF control

<sup>ab</sup>Differect superscript letters show significant difference at  $P < 0.05$  in OLETF rats

Table 4. Effect of experimental diet on hepatic lipids in LETO and OLETF rats

	LETO	OLETF		
	Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
		(mg/g Liver)		
Triglyceride	14.7±1.9	11.0±0.3* <sup>a</sup>	11.8±0.4 <sup>a</sup>	9.60±0.50 <sup>b</sup>
Phospholipid	33.9±0.8	33.7±0.7	34.8±0.6	34.7±0.3
Cholesterol	4.11±0.25	3.26±0.10*	3.23±0.12	3.05±0.07

Each value represents mean ± SE.

\*  $P < 0.05$  LETO control vs. OLETF control

<sup>ab</sup>Differect superscript letters show significant difference at  $P < 0.05$  in OLETF rats



Table 5. Effect of experimental diet on triglyceride concentration in lipoprotein fractions in LETO and OLETF rats

Peak	Major class	Subclass	LETO	OLETF			
			Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA	
mg / dl							
F1	CM		0.0649±0.0219	0.267±0.083	0.309±0.035	0.167±0.033	
F2			0.164±0.026	0.479±0.148	0.252±0.076	0.185±0.019	
F3	VLDL	large	0.514±0.075	1.63±0.29 <sup>a</sup>	1.39±0.06 <sup>a</sup>	0.756±0.135 <sup>b</sup>	
F4			2.55±0.38	6.97±1.99* <sup>ab</sup>	11.9±1.9 <sup>a</sup>	6.33±0.69 <sup>b</sup>	
F5			10.7±1.6	29.3±5.7* <sup>ab</sup>	41.2±5.1 <sup>a</sup>	23.8±2.1 <sup>b</sup>	
F6		medium	9.66±1.21	25.8±3.3* <sup>ab</sup>	29.5±1.8 <sup>a</sup>	19.6±1.6 <sup>b</sup>	
F7		small	2.79±0.28	7.11±0.66* <sup>a</sup>	7.54±0.40 <sup>a</sup>	5.39±0.40 <sup>b</sup>	
F8	LDL	large	2.28±0.22	5.65±0.45* <sup>a</sup>	5.90±0.18 <sup>a</sup>	4.24±0.29 <sup>b</sup>	
F9			1.41±0.11	3.25±0.08* <sup>a</sup>	3.34±0.08 <sup>a</sup>	2.45±0.12 <sup>b</sup>	
F10			1.16±0.08	2.34±0.06* <sup>a</sup>	2.32±0.05 <sup>a</sup>	1.64±0.10 <sup>b</sup>	
F11			very small	0.855±0.075	1.46±0.05* <sup>a</sup>	1.40±0.04 <sup>a</sup>	0.992±0.077 <sup>b</sup>
F12				0.697±0.057	0.981±0.065* <sup>a</sup>	0.978±0.034 <sup>a</sup>	0.656±0.086 <sup>b</sup>
F13			0.412±0.036	0.531±0.045 <sup>a</sup>	0.524±0.021 <sup>a</sup>	0.366±0.042 <sup>b</sup>	
F14	HDL	very large	0.432±0.046	0.534±0.053 <sup>a</sup>	0.569±0.033 <sup>a</sup>	0.350±0.046 <sup>b</sup>	
F15			0.333±0.040	0.423±0.043 <sup>a</sup>	0.430±0.036 <sup>a</sup>	0.309±0.024 <sup>b</sup>	
F16			large	0.443±0.048	0.567±0.052 <sup>a</sup>	0.531±0.052 <sup>ab</sup>	0.399±0.041 <sup>b</sup>
F17			medium	0.350±0.044	0.370±0.043	0.368±0.044	0.290±0.049
F18			small	0.441±0.023	0.478±0.040 <sup>a</sup>	0.524±0.041 <sup>a</sup>	0.326±0.058 <sup>b</sup>
F19			very small	0.238±0.040	0.251±0.057	0.237±0.032	0.175±0.044
F20			1.28±0.08	1.33±0.07	1.25±0.13	1.14±0.11	

Each value represents mean ± SE.

\*  $P < 0.05$  LETO control vs. OLETF control

<sup>ab</sup>Differect superscript letters show significant difference at  $P < 0.05$  in OLETF rats

Table 6. Effect of experimental diet on cholesterol concentration in lipoprotein fractions in LETO and OLETF rats

Peak	Major class	Subclass	LETO	OLETF		
			Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
mg / dl						
F1	CM		0.0654±0.0074	0.0950±0.0078	0.0833±0.0041	0.114±0.017
F2			0.0424±0.0053	0.0575±0.0044 <sup>ab</sup>	0.0501±0.0025 <sup>a</sup>	0.0712±0.0135 <sup>b</sup>
F3	VLDL	large	0.160±0.019	0.202±0.019	0.249±0.007	0.252±0.039
F4			0.573±0.058	0.914±0.166 <sup>a</sup>	1.37±0.16 <sup>b</sup>	1.03±0.08 <sup>ab</sup>
F5			1.56±0.16	2.84±0.37* <sup>ab</sup>	3.46±0.27 <sup>a</sup>	2.56±0.14 <sup>b</sup>
F6		medium	1.41±0.10	2.53±0.25*	2.70±0.15	2.22±0.12
F7		small	0.544±0.034	0.946±0.056*	1.01±0.04	0.854±0.061
F8	LDL	large	0.824±0.076	1.41±0.08*	1.45±0.04	1.27±0.07
F9		medium	1.02±0.19	1.97±0.18* <sup>a</sup>	1.84±0.10 <sup>a</sup>	1.23±0.07 <sup>b</sup>
F10		small	2.09±0.24	2.65±0.16	2.45±0.11	2.32±0.07
F11		very small	1.21±0.18	1.27±0.10	1.15±0.09	1.34±0.13
F12			9.01±0.49	6.58±0.39* <sup>a</sup>	7.26±0.54 <sup>a</sup>	14.8±0.4 <sup>b</sup>
F13			14.4±0.6	11.5±0.4* <sup>a</sup>	12.1±0.7 <sup>a</sup>	21.3±0.5 <sup>b</sup>
F14	HDL	very large	24.7±0.7	21.3±0.7* <sup>a</sup>	22.0±1.0 <sup>a</sup>	32.1±0.8 <sup>b</sup>
F15			27.0±0.4	25.0±0.4* <sup>a</sup>	25.3±0.9 <sup>a</sup>	31.5±0.8 <sup>b</sup>
F16		large	30.2±1.2	31.0±1.1	29.2±0.7	32.0±0.9
F17		medium	9.59±0.55	10.3±0.6	9.01±0.32	9.25±0.23
F18		small	5.45±0.26	5.46±0.25	4.92±0.13	5.21±0.11
F19		very small	2.08±0.10	1.98±0.10 <sup>a</sup>	1.73±0.05 <sup>b</sup>	1.83±0.03 <sup>ab</sup>
F20			2.49±0.07	2.34±0.06 <sup>a</sup>	2.18±0.03 <sup>b</sup>	2.40±0.03 <sup>a</sup>

Each value represents mean ± SE.

\*  $P < 0.05$  LETO control vs. OLETF control

<sup>ab</sup>Different superscript letters show significant difference at  $P < 0.05$  in OLETF rats

Table 7. Effect of experimental diet on lipoprotein particle size in LETO and OLETF rats

	LETO	OLETF		
	Control	Control	9c,11t-CLA	10t,12c-CLA
VLDL (nm)	39.3±0.3	39.2±0.5	40.7±0.7	40.0±0.3

Each value represents mean ± SE.

Table 8. Expressional profiling of adipocyte derived cDNAs in OLETF rats

	Control	10t,12c-CLA
Clones sequenced	450	450
Tags sequenced	12512	12234
Transcript species	2655	
Undefined (683 species)	14 / top 50 species (1499 / 3595 tags)	
	ATACTGACACTTCGTAG	
	GATGCCCCCACCTTAC	
	AGCCATCCCTTCACTAG	
	AATCGGAGGCCAACCAG	
	TAGGTACAGGCTTACTA	
	TCTGACCTGCCTAGGGC	
	ATGACTATTAGCAAGCT	
	GGAGGGGAAGTAGTAAG	
	AGCGATTCAAACAACCA	
	TTAAGACTAGGAGGTTG	
	TTAAGACTAGGAGGTTG	
	CATCTCCAAACACTTGC	
	CAAACATCCATAAACCG	
	GTGACCACGGGTGACGG	

## 参考文献

- 1 . 柳田晃良、永尾晃治、共役脂肪酸の体脂肪低下作用、食品工業、46 : 18-24 ( 2003 )
- 2 . 柳田晃良、永尾晃治、共役リノール酸による抗肥満・抗高脂血症とその機序、肥満研究、19 : 194-196 ( 2003 )
- 3 . 永尾晃治、柳田晃良、共役リノール酸の新規栄養機能、日本栄養食糧学会誌57 : 105-109 ( 2003 )
- 4 . 柳田晃良、食品油脂と体脂肪、「脂質と身体のコロストーク」監修(社)日本栄養・食糧学会(編者 宮澤陽夫、柳田晃良、藤本健四郎)、印刷中、建帛社(2005)
- 5 . 柳田晃良、共役脂肪酸「機能性脂質のフロンティア」(編者、佐藤清隆、柳田晃良、和田俊) pp143-148、2004年、CMC出版
- 6 . K. Nagao, Y-M. Wang, N. Inoue, T. Yanagita, Physiological function of conjugated linoleic acid, in Dietary Fats and Risk of Common Disease (eds. by Y.S. Huang, H.R. Knapp, T. Yanagita) in press, AOCS Press
- 7 . K. Nagao, N. Inoue, Y-M. Wang and T. Yanagita Dietary conjugated linoleic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease in Zucker diabetic fatty rats. Journal of Nutrition, 135 : 9-13 ( 2004 )
- 8 . N. Inoue, K. Nagao, J. Hirata, Y-M. Wang, T. Yanagita, Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats, Biochemical Biophysical Research Communications, 323 : 679-684 ( 2004 )
- 9 . K. Arao, H. Yotsumoto, S-Y. Han, K. Nagao and T. Yanagita, The 9cis, 11trans, 13cis isomer of conjugated linolenic acid reduces apolipoprotein B100 secretion and triacylglycerol synthesis in HepG2 cells. Biosci. Biotech. Biochim. 68 : 2643-2645 ( 2004 )
- 10 . T. Yanagita, K. Nagao, Y-M. Wang, N. Inoue, Conjugated linoleic acid in hypertension in Advances in Conjugated Linoleic Acid III (eds. by edited by MP. Yurawecz. JKG. Kramer, M. Pariza, O. Gudmundsen, and S. Banni) in press, AOCS Press, Champaign, IL (USA).
- 11 . K. Nagao, N. Inoue, Y-M. Wang and T. Yanagita, Enhanced plasma adiponectin level alleviates hyperinsulinemia and hypertension in conjugated linoleic acid fed Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats, Biophysical Research Communications, 310 : 562-266 ( 2003 )
- 12 . K. Nagao, N. Inoue, Y-M. Wang. J. Hirata, Y. Shimada, T. Nagao, T. Matsui and T. Yanagita, The 10trans, 12cis isomer of conjugated linoleic acid suppress the development of hypertension in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats, Biochemical Biophysical Research Communications, 306 : 134-138 ( 2003 )
- 13 . T. Yanagita, K. Nagao and Y-M. Wang, Effects of CLA isomers on obesity and lipid metabolism in obese model rats, in Essential Fatty Acids and Eicosanoids (Y.-S. Huang, et al.,

- eds.), AOCS Press, Champaign, IL (USA), pp348-352 ( 2003 )
- 14 . K. Nagao, Y-M. Wang, N. Inoue, S-Y. Han, Y. Buang, T. Noda, N. Koda, H. Okamatsu and T. Yanagita, The 10trans, 12cis-Conjugated Linoleic Acid Promotes Energy Metabolism in OLETF rats., NUTRITION 19 : 652 - 656 ( 2003 )
  - 15 . Y-M. Wang, SM. Rahman, K. Nagao, SY. Han, Y. Buang, J-Y. Cha and Teruyoshi Yanagita, Conjugated linoleic acid reduces hepatic microsomal triglyceride transfer protein activity and hepatic triacylglycerol mass in obese rats, J. Oleo Sci., 52 : 129 - 134 ( 2003 )
  - 16 . Y-M. Wang, SM. Rahman, K. Nagao, SY. Han and T. Yanagita, Comparison of the effects of triglyceride-CLA and free fatty acid-CLA on hepatic lipid metabolism in OLETF obese rats, J. Oleo Sci., 52 : 121-128 ( 2003 )
  - 17 . H. Matsuzaki, T. Okamoto, M. Aoyama, T. Maruyama, I. Niiya, T. Yanagita and M. Sugano, Trans fatty acids in margarines marketed in eleven countries, J. Oleo Sci, 51 : 555-561 ( 2002 )
  - 18 . SM. Rahman, Y-M. Wang, S-Y. Han, J-Y. Cha, H. Yotsumoto and T. Yanagita, Effects of short term administration conjugated linoleic acid on lipid metabolism in white and brown adipose tissues of starved/refed OLETF rats, Food Research Int., 34 : 515 - 520 ( 2001 )
  - 19 . SM. Rahman, Y-M. Wang, H. Yotsumoto, J-Y. Cha, S. Inoue and T. Yanagita, Effect of conjugated linoleic acid on serum leptin concentrations, body fat accumulation and beta-oxidation of fatty acid in OLETF rats, Nutrition, 17 : 385-390 ( 2001 )