

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 1日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700751

研究課題名（和文） 皮膚における共役リノレン酸の機能開発とメカニズム解明

研究課題名（英文） Development of function and elucidation of mechanism on the skin by oral conjugated linolenic acid.

研究代表者

及川 大地（OIKAWA DAICHI）

長崎大学・教育学部・准教授

研究者番号：90571216

研究成果の概要（和文）：

本研究は、共役リノレン酸が皮下脂肪の蓄積を緩和するか否かを検証することを目的とした。共役リノレン酸は γ -リノレン酸油からアルカリ異性化法を用いて作製した。共役リノレン酸をラットに4週間自由摂取させ、皮膚中脂質量（総脂質、トリアシルグリセロール、総コレステロール、遊離脂肪酸および遊離コレステロール）を分析した。結果として、本検証で作成した共役リノレン酸は、皮膚中の脂質抑制効果は顕著にはみられなかった。

研究成果の概要（英文）：

The aim of the present study was to examine the inhibiting function of skinfold accumulation by oral conjugated linolenic acid. The conjugated linolenic acid was made from gamma-linolenic acid with the method of alkali-isorization. Rats were freely given conjugated linolenic acid for four weeks. Skin lipids (total lipid, triacylglycerol, total cholesterol, free fatty acid and free cholesterol) were determined. As a result, anti-obesity of the skin by oral conjugated linolenic acid in this study were not remarkably found.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：共役脂肪酸・共役リノレン酸・皮下脂肪・抗肥満

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国では十分な食物が供給され、低栄養は改善された。しかし、エネルギーの過剰摂取による肥満の誘起が指摘されている。本研究のテーマである皮下脂肪は、生活習慣病に關与する内臓脂肪に比べ見落とされがちであるが、皮下脂肪は内臓脂肪に比べ減少させることが困難である[Zamboni et al. *Am J Clin Nutr* 58; 29-34 (1993).]。更に、皮下脂肪の肥圧は皮膚中の血管や神経を圧迫し、皮膚疾病の要因となる[Scheinfeld. *Clin Dermatol* 22; 303-309 (2004).]。

そこで本研究では、皮下脂肪蓄積の予防物質として「共役リノレン酸 (CLN; Conjugated Linolenic Acid)」に注目した。

CLN の炭素数と二重結合の数(C18:3)は γ -リノレン酸 (GLA) および α -リノレン酸と一致している。しかし、CLN は共役ジエン結合を有しており (図 1)、構造の違いにより数種確認されている。CLN は自然界に存在し、ニガウリの種子などに含有している。機能面では、CLN の摂取はげっ歯類の内臓脂肪および肝臓脂質を抑制することが現在まで報告されている[Koba et al. *Lipids* 37; 343-350 (2002)., Arao. *Lipids Health Dis* 3; 24 (2004).]。しかし、CLN の摂取が皮膚に与える影響について検証した知見は、世界で全くない。

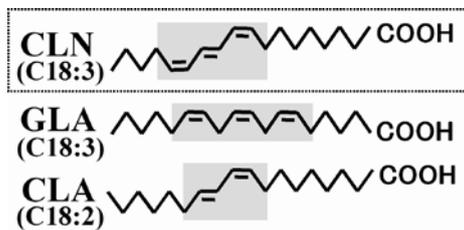


図 1. CLN, GLA および CLA の構造式

応募者は、これまで CLN と同様の共役脂肪酸である共役リノール酸 (CLA) (図 1) に注目し、CLA の摂取は内臓脂肪の蓄積を抑制するだけでなく、皮下脂肪においても抗肥満の効果が得られることを初めて見出した (図 2) および [Oikawa D, et al. *Lipids* 38; 609-614 (2003)., Oikawa D, et al. *Br. J. Nutr.* 94; 275-281 (2005).]。CLN は理論上 CLA の代謝物であり (図 3)、CLN も皮下脂肪を抑える可能性は十分考えられる。

本項により下記二点の新たな発見および解明が期待できる。

- ① 皮下脂肪の蓄積を抑制する新規栄養素の発見。
- ② 皮下脂肪に対する CLN の抗肥満作用メカニズムの解明。

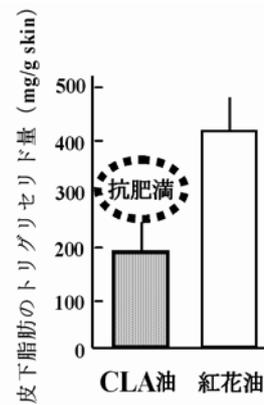


図 2. CLA による皮下脂肪の抗肥満作用

2. 研究の目的

共役リノレン酸および皮膚に焦点を当て、下記の研究を遂行した。

「共役リノレン酸が皮下脂肪の蓄積を緩和するか否かを明らかにする。」

本研究は、皮膚における共役リノレン酸の新機能を見出すことを大きな目的としている。具体的に「皮下脂肪」に焦点を当て、共役リノレン酸摂取による皮膚疾病の抑制効果だけでなく、それぞれのメカニズム解明まで見据えた研究である。

3. 研究の方法

(1) 共役脂肪酸の作製

共役リノレン酸 (CLN) を供飼動物に長期摂取するために、アルカリ異性化法 (特許番号 3017108 号) を応用して共役脂肪酸の作製に着手した。リノール酸高含有サフラワー油または γ -リノレン酸油に、加熱したプロピレングリコールおよび水酸化カリウムの混合液を加え加熱しながら攪拌した。攪拌終了後、冷却下で塩酸を加えた。ヘキサン抽出の後、食塩水および蒸留水で精製し、エバポレーターにてヘキサンを留去し、試料を抽出した。合成した油脂はガスクロマトグラフ質量分析計にて組成分析を行い、共役リノレン酸、共役リノール酸の含有率を分析した。

(2) 共役リノレン酸摂取によるラット皮下脂肪の蓄積緩和作用の検証

リノール酸高含有サフラワー油および γ -リノレン酸油をアルカリ異性化することにより、共役リノール酸 (CLA) および共役 γ -リノ

ン酸油を作製した。本油脂の皮膚への効果を評価するため、ラットを用いて皮膚脂質代謝への影響を検証した。

3週齢SD系雄ラット24匹を単飼ケージに入れ、1週間予備飼育後、AIN-93Gの一部を高リノール酸サフラワー油 (LA群)、 γ -リノレン酸油 (GLA群)、共役リノール酸油 (CLA群) および共役 γ -リノレン酸油 (GCLN群) にそれぞれ代替した餌を4週間自由摂取させた。飼育終了後、背部の皮膚を採取し、液体窒素にて瞬間凍結した後 -80°C で保存した。皮膚からFolch法にて総脂質を抽出し、生化学的手法によりトリアシルグリセロール、総コレステロール、遊離脂肪酸および遊離コレステロール量をそれぞれ測定した。統計解析は一元配置の分散分析にて比較し、 $p \leq 0.05$ の際有意差ありと判定した。

4. 研究成果

皮膚中脂質含有量について分析した結果、下記の結果が得られた。皮膚中総脂質含有量はLA群、GLA群、CLA群およびGCLN群でそれぞれ 0.10 ± 0.02 , 0.11 ± 0.01 , 0.10 ± 0.01 , 0.13 ± 0.02 (g/g 皮膚) となった。この4群間で統計学的に比較したところ、総脂質量に有意差を確認できなかった ($p = 0.39$)。トリアシルグリセロール量はLA群: 13.3 ± 2.2 , GLA群: 12.0 ± 0.9 , CLA群: 12.4 ± 2.3 , GCLN群: 16.6 ± 3.1 (mg/g 皮膚) となり、群間に有意差はなかった ($p = 0.48$) (図3)。さらに総コレステロール量はLA群: 6.9 ± 1.1 , GLA群: 7.0 ± 1.2 , CLA群: 6.6 ± 0.8 , GCLN群: 6.6 ± 1.2 (mg/g 皮膚) ($p = 0.98$) (図4)、遊離脂肪酸はLA群: 4.6 ± 0.8 , GLA群: 3.8 ± 0.3 , CLA群: 4.1 ± 0.4 , GCLN群: 4.4 ± 0.2 (mEq/g 皮膚) ($p = 0.75$) (図5) および遊離コレステロール量はLA群: 2.4 ± 0.1 , GLA群: 2.2 ± 0.1 , CLA群: 2.2 ± 0.1 , GCLN群: 2.1 ± 0.1 (mg/g 皮膚) ($p = 0.37$) といずれの結果も群間に有意差はなかった。

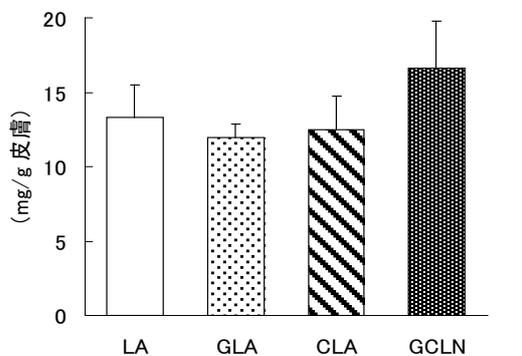


図3. 皮膚中のトリアシルグリセロール量
各群 n=6, 平均値±標準誤差

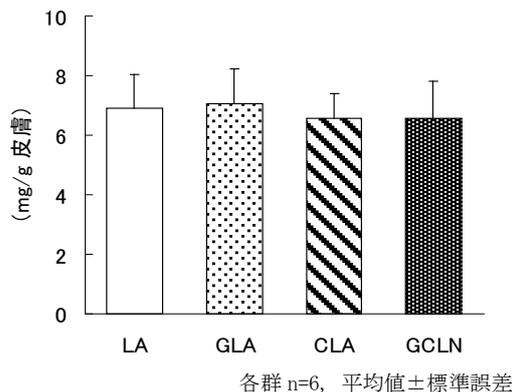


図4. 皮膚中の総コレステロール量
各群 n=6, 平均値±標準誤差

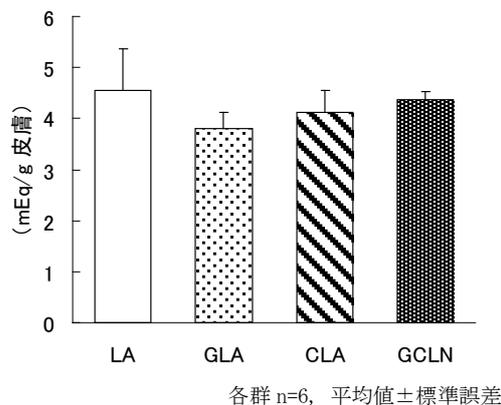


図5. 皮膚中の遊離脂肪酸量
各群 n=6, 平均値±標準誤差

これらの結果から、本研究で用いた共役 γ -リノレン酸油 (GCLN) は皮下脂肪抑制効果を示さなかった。総脂質およびトリアシルグリセロール量に有意差は無かったが、GCLN群の平均値は他の3群に比して上昇していた。これらの結果から本研究で作成したGCLNは、皮膚中の脂質成分を上昇させる可能性があることを示唆された。これまでの共役リノレン酸は肝臓および内臓の脂質量を減少させる可能性が報告されている [Koba et al. *Lipids* 37; 343-350 (2002)., Arao. *Lipids Health Dis* 3; 24 (2004).]。本研究で用いた γ -リノレン酸から作製した共役リノレン酸に関して、肝臓および血液の脂質量を測定することは今後の検証事項である。一方、LA群とCLA群とを比較するとCLA群においても減少傾向が確認されなかった。これまでの研究においてCLAの長期摂取は皮下脂肪の蓄積を抑制することを見出していることから [Oikawa D, et al. *Br. J. Nutr.* 94; 275-281 (2005).], CLAの作成方法をさらに見直すことが課題となった。さらに、共役リノレン酸に関する先行研究では供飼動物としてラットを用いているため、本研究においてもラットを選択した。しかし、ラットはCLAへの感受性が低いため、極度な脂質減少が表れない。ラットを用いたことが本研究のCLAおよびGCLNの両群ともに顕著な変

化を及ぼさなかった要因であることを示唆した。今後、ラットに加えてラットより共役脂肪酸への感受性が高いマウスも用いて検証したいと考えている。

結論として、本研究課題より皮膚の脂質代謝における共役リノレン酸の影響について一つの検証ができたと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ

<http://research.jimu.nagasaki-u.ac.jp/IST?ISTActId=FINDJPDetail&ISTKidoKbn=&ISTErrorChkKbn=&ISTFormSetKbn=&ISTTokenChkKbn=&userId=100000461>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

及川 大地 (OIKAWA DAICHI)

長崎大学・教育学部・准教授

研究者番号：90571216