

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580171

研究課題名(和文) 妊娠期・離乳期での α -リノレン酸のドコサヘキサエン酸への代謝調節機序の解明研究課題名(英文) Elucidation of the metabolism control of the biosynthesis docosahexaenoic acid from α -linolenic acid in perinatal and weaning period

研究代表者

木村 ふみ子 (KIMURA, Fumiko)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：50321980

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)： α -リノレン酸は、エゴマ、ナタネ、大豆などの油糧種子に含まれ、主な栄養機能はドコサヘキサエン酸(DHA)の前駆体である。DHAは、特に成長の著しい胎児・新生児・乳児とこれを育てる妊婦・授乳婦にとって重要な脂肪酸であるが、近年、 α -リノレン酸のDHA源としての効率を疑問視するヒト試験の報告がなされている。本研究は α -リノレン酸の特に周産期のDHA前駆体としての重要性の証明を目的に実施した。すなわち周産期の脂肪酸組成の評価への胎盤の利用の検討し、魚摂取量との関係を調べた。また、n-3系脂肪酸欠乏動物への魚油および紫蘇油投与試験を実施し紫蘇油投与がn-3系脂肪酸欠乏の回復に有効であることを示した。

研究成果の概要(英文)：Alpha-linolenic acid is a precursor of docosahexaenoic acid (DHA) and included in perilla seed, canola (rapeseed) and soybean oils. DHA is very important fatty acid for fetuses, neonates and infants growing rapidly in a short time, and for pregnant and breastfeeding women. However, a few human studies have indicated that α -linolenic acid is inefficient as the source for DHA. In this study, our object is the elucidation of the importance of α -linolenic acid especially as the precursor for DHA during the perinatal period. We studied whether placental tissue can be candidate material for investigation of the fatty acid status during perinatal period, and the influence of the differences in fish consumption levels on placental FA composition. On the other hand, we tested supplementation of perilla seed oils in mildly n-3-PUFA-deficient rats and demonstrate the effectiveness of ingesting perilla oil in the weaning period for improving mild n-3 PUFA deficiency.

研究分野：食品科学

キーワード：ドコサヘキサエン酸 α -リノレン酸 胎盤 ヒト ラット

1. 研究開始当初の背景

α -リノレン酸の主要な機能は DHA の前駆体で、特に成長の著しい胎児・新生児・乳児とこれを育てる妊婦・授乳婦にとって必要である。しかし、 α -リノレン酸を含む油は酸化劣化に弱いため、調理加工食品では敬遠される傾向にある。さらに過酷な欠乏症にしない限り、ヒト試験や動物実験等で明確な機能が見られないことも、 α -リノレン酸含有の油の積極的な利用を阻んでいる。

さらに安定同位体ラベル化物を使い短期的な代謝を評価したヒト試験では、女性は経口摂取した α -リノレン酸の 9% を DHA に変換するとしている (Burdge and Wootton 2002) が、長期の α -リノレン酸のサプリメントでは血中の EPA 含量は上昇するものの、DHA の上昇は見られないことが介入試験のメタアナリシスで示され (Burdge 2006)、 α -リノレン酸の DHA 源としての重要性については議論がわかれている。

申請者はこれまでラットを使った実験から、妊娠・授乳期の α -リノレン酸摂取の有無が母乳や仔の組織 DHA 含量に有意な影響を与え、妊娠・授乳期に摂取した α -リノレン酸は DHA 源になることを示している (Kimura et al, 2011, 2008)。これらの結果より、DHA や EPA を摂取できない環境下では、 α -リノレン酸は妊娠・授乳期の女性および成長期の子供にとり、重要な DHA 源であると考えられる。

一方、日本人の DHA の平均摂取量および母乳中の DHA 含量は諸外国より高く (Brenna et al. 2007)、これまで ω -3 系脂肪酸の不足については注目されてこなかった。しかし、昨今の食生活の多様化、環境汚染物質や放射能による汚染の影響、漁獲資源の減少と外国の水産物の需要増による魚の高額化などにより、若い女性や幼児の ω -3 系脂肪酸、特に DHA の摂取量が不十分な集団が増加する恐れがある。しかし、現代日本人、特に妊婦・胎児の脂肪酸組成に関する知見が不足しているのが現状である。

そこで本研究では妊婦を対象にした栄養疫学調査を行い、魚の摂取頻度の低い集団の ω -3 系脂肪酸充足度の実態を調べると共に動物実験にて α -リノレン酸が DHA 源として有効であることの証明を行う目的で実施した。

2. 研究の目的

周産期のヒトの脂肪酸組成を評価するにあたり、試験試料の入手の困難さが挙げられる。そこで試験試料として胎盤に着目した。胎盤は試料採取時の母体への侵襲性がなく、分娩後に廃棄されるため入手が比較的可能な生体試料である。一方で先行研究での胎盤の利用例は少なく、胎盤の試験試料としての妥当性を評価する必要が生じた。我々はこれまで、胎盤が均一な構造を持たないことから、試料採取位置による脂肪酸組成の変動の影

響について調べておりこの成果についての論文化を進めた。さらに新たに胎盤組織を収集し、妊婦及び胎児の脂肪酸組成を反映するかの確認のため、母体血、臍帯血との比較を行った。以上を踏まえ、妊婦の魚摂取量が胎盤の n-3 系脂肪酸組成に与える影響を評価した。

また、妊娠中に n-3 系脂肪酸が不足した飼料を与えたラットの子に紫蘇油投与試験を行い、紫蘇油投与が n-3 系脂肪酸欠乏の回復に有効かの評価を行った。

3. 研究の方法

(1) 胎盤の脂肪酸組成の母体血・臍帯血の赤血球膜脂肪酸組成との比較

石巻および気仙沼在住の妊婦より 2013 年 1 月から 2014 年 5 月の間に提供を受けた胎盤 (n=544) を凍結乾燥後、抽出した脂質の脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーにて分析を行った。妊娠 24-30 週目の母体血赤血球 (n=513)、分娩時の臍帯血赤血球 (n=522) の脂肪酸組成は女子栄養大から提供を受けた。胎盤、母体血赤血球膜、臍帯血赤血球膜の脂肪酸組成データが揃った 493 名について、相関解析を行った。

(2) 妊婦の魚摂取量が胎盤の n-3 系脂肪酸組成に与える影響の評価

(1) の集団について妊娠中期の魚摂取量頻度調査に回答した 489 名について、魚摂取頻度で群分けを行い、胎盤の長鎖不飽和脂肪酸 (LC-PUFA) の脂肪酸組成に与える影響を調べた。

(3) n-3 系脂肪酸が不足したラットへの紫蘇油投与試験

飼料は A I N 9 3 G 処方 に準拠して作成した。対象は油脂源として大豆油を使用し、n-3 系脂肪酸欠乏食は油資源をピーナツ油とサフラワー油を 1:2.5 の割合で混合したものを大豆油の代わりに使用した。妊娠 4 日目の市販 SD 系ラットに一方は対照として大豆油食、他方は n-3 系脂肪酸欠乏食で飼育した。仔ラットが 5 日齢の時、各腹 8 匹になるよう間引きを行った。残った仔ラットは哺乳保育を続け 3 週齢で離乳し、4 週齢まで母ラットと同じ餌で飼育した。離乳ラットを 4 週齢時以降、紫蘇油投与試験に供した。紫蘇油は市販の α -リノレン酸含量が 50~60% のものを使用した。0.1% ショ糖脂肪酸エステルを分散剤とし、15% 乳化液として体重 g あたり 1.5mg の紫蘇油を経口投与した。

4. 研究成果

(1) 胎盤の脂肪酸組成の母体血・臍帯血の赤血球膜脂肪酸組成との比較

胎盤の脂肪酸組成分析を行い、544 検体の胎盤脂肪酸のうち組成比の平均が 1% を越える主要な脂肪酸は C16:0、C18:0、C18:1 (n-9)、C18:1 (n-7)、C18:2 (n-6)、C20:3 (n-6)、C20:4 (n-6)、C22:4 (n-6)、C22:6 (n-3) の 9 種類であった。特に C20:3 (n-6) は 5.14 ±

0.74%と、他の組織中の C20:3 (n-6) の組成比と比べ高い点で特徴的であった。各脂肪酸の RSD% (相対標準偏差) を算出したところ、上述の 9 種の脂肪酸の中では、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸に比べ、LC-PUFA で個体間の変動が大きく、20:4 (n-6) 以外は RSD% が 10 以上の高い値を示した。この結果は、胎盤のアラキドン酸以外の LC-PUFA は個体差が大きく、食事や代謝調節の影響を受けやすいことを示唆しているものと考えられた。

表1 胎盤、臍帯血赤血球、母体血赤血球PUFAの相関表

n-6 PUFA				
	C18:2(LA)	C20:3	C20:4 (ARA)	C22:4
胎盤 vs 臍帯血	0.406 **	0.282 **	0.327 **	0.412 **
胎盤 vs 母体血	0.433 **	0.593 **	0.407 **	0.440 **
臍帯血 vs 母体血	0.402 **	0.406 **	0.251 **	0.477 **
n-3 PUFA				
	C20:5(EPA)	C22:5	C22:6(DHA)	
胎盤 vs 臍帯血	0.752 **	0.568 **	0.410 **	
胎盤 vs 母体血	0.595 **	0.399 **	0.371 **	
臍帯血 vs 母体血	0.698 **	0.458 **	0.312 **	

胎盤と母体血および臍帯血の赤血球膜の脂肪酸組成を比較すると、DHA、EPA、アラキドン酸をはじめとする LC-PUFA で有意な正相関が見られたが、EPA 以外の相関係数は 0.251 ~ 0.568 に留まった。すなわち胎盤は母体血および臍帯血の脂肪酸組成の特徴を一部反映する一方で、独自の特徴を持つ組織であることが示された。なお、EPA は他の脂肪酸に比べ高い相関係数を示し、特に胎盤と臍帯血間の相関係数は 0.752 と強い相関を示した。これは EPA が他の脂肪酸に比べ組織中の組成比が、食事、特に魚摂取の影響を受けやすい脂肪酸であるためと考えられた。そこで、魚の摂取量が組織中の n-3 系脂肪酸組成比に与える影響を明らかにするため、次の解析を行った

(2) 妊婦の魚摂取量が胎盤の n-3 系脂肪酸組成に与える影響の評価

解析対象となった集団より、魚摂取頻度の高さが上位 10 パーセントの高魚摂取群 (n=48) と下位 10 パーセントの低魚摂取群 (n=49) を抽出し解析を行った。低魚摂取群の EPA 組成比は胎盤、母体血および臍帯血赤血球で高魚摂取群より有意に低い値を示した。一方、DHA 組成比は胎盤および母体血赤血球で低魚摂取群は高魚摂取群より有意に低い値を示したが、臍帯血赤血球では有意な差は見られなかった。アラキドン酸組成比はいずれの組織でも有意な差はみられなかった。

図 1、2 は胎盤と臍帯血および母体血赤血球の EPA と DHA の組成比の相関関係を魚摂取群毎に示したものである。高魚摂取群の母体血赤血球の EPA 組成比が高値を示す以外は、両群間に大きな違いは観察されなかった。

これらの結果から、組織中の EPA 組成比は魚の摂取頻度の影響を直接受けるが、代謝調

節が関与する DHA およびアラキドン酸は、特に臍帯血赤血球で、魚摂取の影響は小さくなると考えられた。このことは胎児の赤血球 DHA 含量には、魚摂取以外の要素、すなわち α -リノレン酸からの DHA 合成、胎盤を介した LC-PUFA 輸送調節などが関与している可能性が示された。

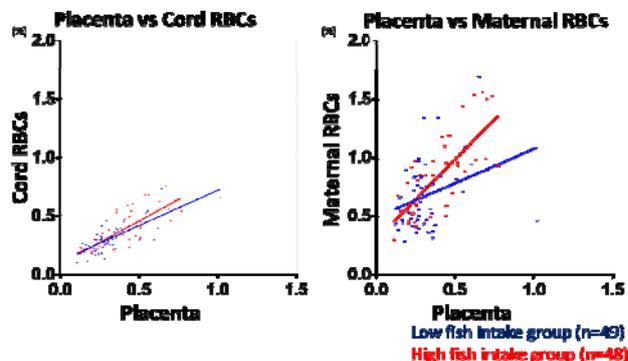


図1 胎盤・臍帯血赤血球・母体血赤血球 EPA 組成比の相関関係に与える魚摂取頻度の影響

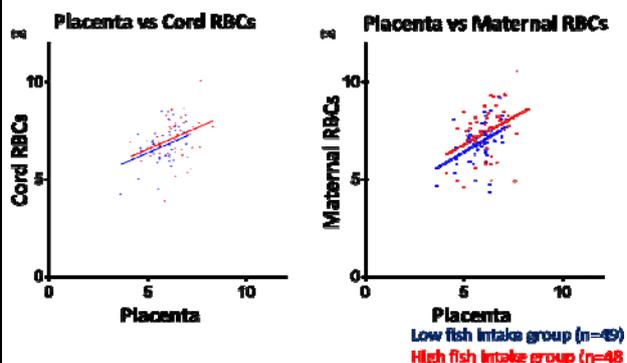


図2 胎盤・臍帯血赤血球・母体血赤血球 DHA 組成比の相関関係に与える魚摂取頻度の影響

(3) n-3 系脂肪酸が不足した動物への紫蘇油投与試験

離乳後に一週間、紫蘇油または DHA を投与した結果、肝臓リン脂質の DHA 組成比は、それぞれ 6.5%、12%であり、n-3 系脂肪酸を投与しなかった n-3 系脂肪酸欠乏群の 2.8% とくらべ、顕著な回復がみられた。正対照の大豆油群の肝臓リン脂質 DHA 組成比は 9.6% であったことから、紫蘇油 (α -リノレン酸) は魚油 (EPA・DHA) と比べ効率的ではないものの、n-3 系脂肪酸が不足した状態では DHA の前駆体として有効であることが示された。

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 1 件)

1. Yamazaki I, Kimura F, Nakagawa K, Nakai K, Arima T, Kawabata T, Kagawa Y, Saitoh S, Mizuno S, Yaegashi N, Miyazawa T, The heterogeneity of fatty acid composition in Japanese

placentae: a methodological study for the determination of perinatal fatty acid status., J. Oleo Sci, 査読有, In press.

[学会発表] (計 8 件)

1. Kimura F, Yamazaki I, Nakagawa K, Nakai K, Kawabata T, Arima T, Saitoh S, Mizuno S, Yaegashi N, Miyazawa T, Fatty acid composition of placentae in Japanese pregnant. Asian Conference on Oleo Science 2014 (ACOS 2014) (札幌, 9/8-10)
2. 木村ふみ子, 山崎潔大, 仲川清隆, 仲井邦彦, 川端輝江, 有馬隆博, 水野聖士, 八重樫伸生, 宮澤陽夫, 日本人胎盤のトランス脂肪酸含量についての報告. 日本油化学会第 53 回年会 (札幌, 2014, 9/9-11)
3. 山崎潔大, 木村ふみ子, 仲川清隆, 川端輝江, 仲井邦彦, 有馬隆博, 水野聖士, 八重樫伸生, 宮澤陽夫, 胎盤組織における長鎖不飽和脂肪酸生合成に関わる中間代謝物の解析—出生コホート調査 (エコチル調査の追加調査) での検討. 日本脂質栄養学会第 23 回大会 (東京, 2014, 8/29~30)
4. 山崎潔大, 木村ふみ子, 仲川清隆, 宮澤陽夫, 妊娠ラットにおける母体および胎児の脂肪酸組成の経時変化. 第 68 回日本栄養・食糧学会大会 (札幌, 2014, 5/30-6/1)
5. 山崎潔大, 木村ふみ子, 川端輝江, 仲井邦彦, 水野聖士, 有馬隆博, 八重樫伸生, 宮澤陽夫, ヒト胎盤組織の脂肪酸組成と新生児の出生パラメーターとの比較. 第 47 回日本栄養・食糧学会東北支部大会 (秋田, 2013, 10/5)
6. 山崎潔大, 木村ふみ子, 川端輝江, 仲井邦彦, 水野聖士, 有馬隆博, 八重樫伸生, 宮澤陽夫, ヒト胎盤組織の脂肪酸組成分析. 日本油化学会第 52 回年会 (仙台, 2013, 9/3-5)
7. 山崎潔大, 木村ふみ子, 川端輝江, 仲井邦彦, 有馬隆博, 八重樫伸生, 仲川清隆, 宮澤陽夫, ヒト胎盤組織の疫学調査試料としての有用性—母体血、臍帯血の脂肪酸組成との比較—. 第 67 回栄養・食糧学会 (名古屋, 2013, 5/24-26)
8. 山崎潔大, 木村ふみ子, 有馬隆博, 仲井邦彦, 仲川清隆, 宮澤陽夫, ヒト胎盤組織の脂肪酸組成分析—疫学調査試料としての妥当性の検討—. 日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台, 2013, 3/24-28)

[図書] (計 2 件)

1. 木村ふみ子, 仲川清隆, エイコサペンタエン酸 (EPA). 機能性食品の作用と安全性百科 (上野川修一, 清水俊雄, 清水誠, 鈴木英毅, 武田英二 編), 丸善出版

株式会社, 237-237 (544) (2012)

2. 木村ふみ子, 仲川清隆, ドコサヘキサエン酸 (DHA). 機能性食品の作用と安全性百科 (上野川修一, 清水俊雄, 清水誠, 鈴木英毅, 武田英二 編), 丸善出版株式会社, 270-270 (544) (2012)

[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 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村ふみ子 (KIMURA, Fumiko)
東北大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号 : 50321980

(2) 研究分担者

宮澤 陽夫 (MIYAZAWA, Teruo)
東北大学・大学院農学研究科 教授
研究者番号 : 20157639

(3) 連携研究者

仲井邦彦 (NAKAI, Kunihiko)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号 : 00291336