

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：34316

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292071

研究課題名(和文) 油脂のセファリックな信号解析に基づく人工油脂の設計に向けた科学的基盤構築

研究課題名(英文) Study for design of artificial fats based on analysis of cephalic signal of fats

研究代表者

伏木 亨 (Fushiki, Tohru)

龍谷大学・農学部・教授

研究者番号：20135544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：油脂に対する嗜好性は油脂の濃度によって少なくとも3つの階層構造をとっていることを示唆した。高濃度の油脂に対する報酬を伴う高い嗜好性、中程度の濃度の油脂に対する生理的な嗜好性、脂肪酸やその酸化物が油脂の存在の手がかりとなり、微量の油脂の香気を嗅覚が捉えることによる応答の3つである。本研究は特に超微量の油脂が嗅覚を介して油脂の嗜好性に寄与することを明らかにし、脂肪酸およびその酸化生成物に対する実験動物の嗜好性を明らかにした。また、マウスの嗅粘膜上皮に、酸化された油脂と相互作用をするCD36が大量に発現していることを発見した。油脂の香気に対する嗜好性に関する可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：The palatability of fat is an important topic for research on food products, as it is challenging to think of how to develop food products without fat that nevertheless appeal to the taste preferences of contemporary consumers. However, the excessive intake of fat has contributed to increases in obesity and lifestyle-related diseases. In the present study, I showed that a relatively small amount of fatty acids can substitute for the stimulus of fat on the tongue as an antagonist for putative fat receptor. Moreover, the flavor of fatty acids and volatile compounds derived from fats signal the chemical presence of fats that contributes to the sensation of deliciousness, stimulating the recall of memories of eating fatty foods.

研究分野：栄養化学

キーワード：嗜好性 油脂 脂肪酸 頭相

## 1. 研究開始当初の背景

油脂は、食品のおいしさを左右する重要な成分であり、油脂に富む食品の嗜好性は高い。一方で、油脂の過剰摂取は肥満の原因ともなる。この二律背反のブレークスルーに向けて申請者は研究を重ねてきた。

これらの実験の蓄積から、すでに油脂に対して高い嗜好性を有している人間では、セファリックな情報が油脂に対する食の記憶を担っており、口腔内で感じる油脂のおいしさの実体であることが明らかになった。食用油脂の大部分を占める TG は食感には寄与するが他のセファリックな信号にはならないので、大幅に代替・削減できる。この部分をミネラルオイルなどの低カロリー物質で代替しても実験動物の嗜好性は維持できた (JNSV 2007)。実際に食品に長鎖脂肪酸を添加することや、酸化油脂の香気成分分の微量添加も、動物や人の嗜好性を著しく高めることを予備実験で実証している。

## 2. 研究の目的

セファリック (Cephalic, 頭相) 信号とは、匂いや味、食感など食物を飲み込むまでに感じとられる刺激の総称である。油脂に高い嗜好性を持つ人間では、セファリックな刺激が油脂のおいしさの手がかりとなっており、これらを油脂のおいしさの本体と捉えて満足している。

本研究では、食品油脂の高度な嗜好性の要因であるセファリックな刺激に焦点を当て、特に食品油脂の酸化香気、油脂分子の舌への化学刺激に絞り、それぞれの実体を明らかにし、人間の健康に資する低カロリー人工代替油脂の設計に向けた科学基盤を構築する。

## 3. 研究の方法

本研究では、油脂の有する様々な情報のなかで、摂取した油脂を飲み込むまでのセファリックな情報を油脂のおいしさに関わる記憶としてとらえ、これらに焦点を絞った。風味に関わる香気成分として動物が油脂の存在の手がかりとしている食用油脂酸化によって生じる微量の香気成分に着目した。さらに、これらについて情報の実体となる物質の化学的特性を明らかにし、さらに食品中からより嗜好性の高い関連物質を申請者の研究の蓄積の過程で構築した独自の系でスクリーニングする。これらの知見を基に、新規に構築した人工油脂の受諾性を動物行動、脳計測、人を用いた官能パネルによって評価する。

## 4. 研究成果

(1) 微量の脂肪酸の添加がセファリックな嗅覚刺激を介して低カロリー食品の嗜好性を高め、高い付加価値を持った食品を開発する研究を行った。

脂肪酸が嗜好性を高める効果があることを動物実験で確認するとともに、そのメカニズムについて動物の行動学実験手法を用い

て解析した。その結果、非常に低濃度の脂肪酸製剤添加が嗜好性を高めているという現場での成果を嗅覚刺激の面から支持するメカニズム解析結果を得た。

脂肪酸の微量添加が嗅覚を介することについて、超微量の脂肪酸に含まれる香気成分が嗜好性を高めていることを、動物実験ならびにヒトパネルを用いた官能試験で明らかにした。嗅覚の寄与する油脂濃度域を明らかにする目的で、8週齢のマウスに嗅覚遮断手術を施し、水と比較して各種濃度の油脂の嗜好性を調べたところ、0.078%から0.313%の油脂濃度域で特に嗅覚の嗜好性増強効果が大きいことが明らかになった。微量の油脂の中で嗅覚を刺激する香気成分と考えられるのは脂肪酸及びその分解物であると考えられた。

### (2) 脂肪酸の分解物の作用

微量の油脂の中で嗅覚を刺激する香気成分は脂肪酸及びその分解物であると考えられ、特に脂肪酸の分解物である揮発性カルボニル化合物はアルデヒド類が多く、微量でも香気が強いため、食用油の香気分析を行った。

脂肪酸製剤の嗜好性増強効果のメカニズムを解析し、脂肪酸やその分解物成分の嗜好性について検討を行い、CD36を中心とした嗅覚受容機構との関連を明らかにした。

低濃度の油脂に対するマウスの嗜好性には嗅覚が重要な寄与をしていたが、高濃度の油脂に対する嗜好性は、嗅覚遮断の影響を受けなかった。

短時間加熱 (180℃ 2分) によって酸化された大豆油には、低分子カルボニル化合物が大量に生成していた。室温放置でもこれらの化合物は徐々に生成していることが中野らの実験で明らかにされている。それらの多くは、高濃度では酸化臭や劣敗臭の原因となるものであった。しかし、超微量の濃度では脂肪酸や油脂の分解産物であるカルボニル化合物が、嗅覚を刺激して油脂の存在を示唆するシグナルとして嗜好性の増強に関与している可能性がある。都築らは、CD36が酸化されたカルボニル化合物とも相互作用する可能性を示唆している。

### (3) 鼻粘膜状に脂肪酸およびその酸化物・分解物に対する受容機構があることの検証

不溶化した CD36 ペプチドに脂肪酸化合物を添加して生じる蛍光の増加 (B) が見られるが、オレイン酸の存在下では蛍光の増加 (ペプチドと酸化 LDL の結合) が阻害された (B-A が減少した) (図 1)。

このことから、長鎖脂肪酸は CD36 のリガンドとなることが明らかになった。脂肪酸アルコールや脂肪酸のメチルエステルでは CD36 との結合が観察されなかった。最近の研究では、脂肪酸のアルデヒドの一部が CD36 のリガンドとなることが示唆されている。

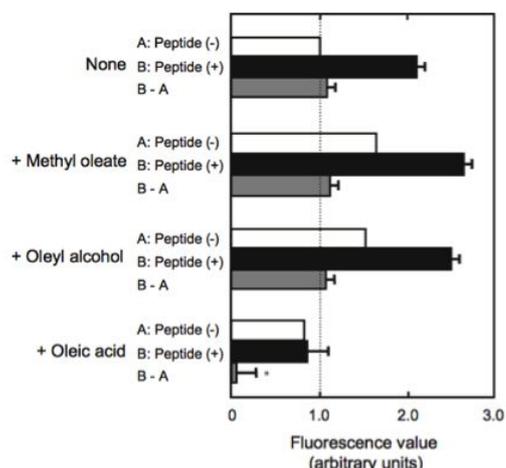


図1 脂肪酸はCD36のリガンドとなる蛍光標識した酸化LDLと不溶化したCD36部分合成ペプチドとの結合が長鎖不飽和脂肪酸によって阻害された。

これらの実験から低濃度の油脂に対するマウスの嗜好性には嗅覚が重要な寄与をしていることが確認された。また、高濃度の油脂に対する嗜好性は嗅覚遮断の影響を受けないことも明らかになった。マウスの油脂嗜好性には、嗅覚を介する部分と嗅覚とは独立した部分が存在することが示唆された。

#### (4) 形態学的観察

抗CD36抗体と抗嗅覚受容体抗体の2重染色によって、CD36がマウスの嗅粘膜上皮に高濃度に発現していることを明らかにした。嗅覚細胞はCD36抗体では染色されなかった。CD36は嗅覚細胞表面に直接発現しているのではなく、粘膜の表面に層状に分布している可能性が示唆された。

CD36ノックアウトマウスではCD36は染色されなかった。

金粒子付着CD36抗体を用いてさらに詳細に形態学観察を行ったところ、嗅覚細胞の微絨毛にCD36の発現が観察された(図2)。

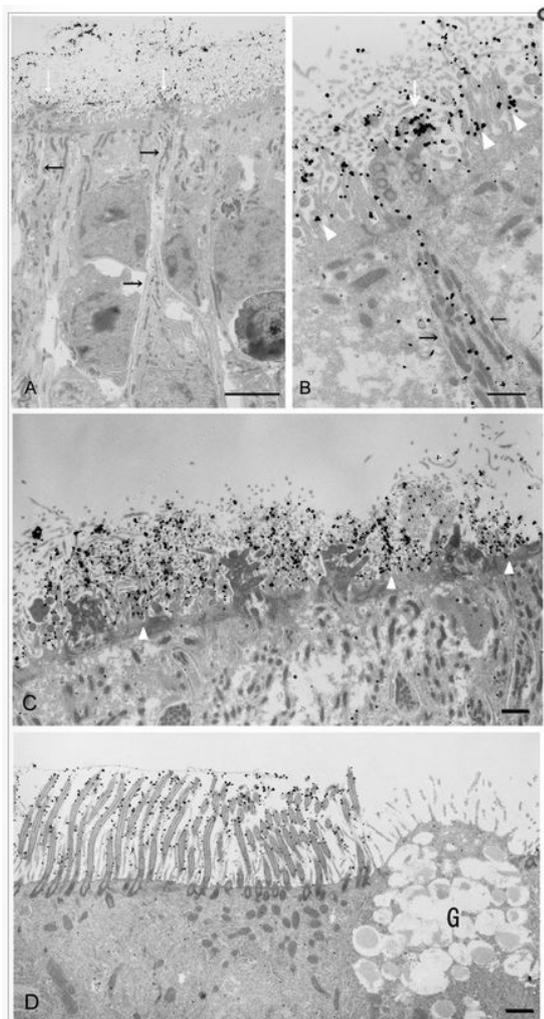


図2 CD36金粒子抗体を用いた嗅覚細胞の形態学的検討

金粒子付着CD36抗体を用いてさらに詳細に形態学観察を行ったところ、嗅覚細胞の微絨毛にCD36の発現が観察された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計12件)

Lee S, Eguchi A, Tsuzuki S, Matsumura S, Inoue K, Iwanaga T, Masuda D, Yamashita S, Fushiki T. Expression of CD36 by olfactory receptor cells and its abundance on the epithelial surface in mice. *PLoS One* 10 (2015) e0133412 査読有 DOI:10.1371/journal.pone.0133412

Lee S, Eguchi S, Sakamoto K, Matsumura S, Tsuzuki S, Inoue K, Masuda D, Yamashita S, Fushiki T. A role of CD36 in the perception of an oxidised phospholipid species in mice. *Biomed.Res* 36.(2015) 303-311 査読有 DOI:10.2220/biomedres.36.303

Sakamoto K, Matsumura S, Okafuji Y, Eguchi A, Yoneda T, Mizushige T, Tsuzuki

S, Inoue K, Fushiki T. The opioid system contributes to the acquisition of reinforcement for dietary fat but is not required for its maintenance. *Physiology & behavior*138 (2014) 227-234 査読有  
DOI:10.1016/j.physbeh.2014.11.001

〔学会発表〕(計9件)

脂肪関連物質のモデルCD36ペプチドへの結合能の評価 香西裕貴 第53回日本栄養・食糧学会近畿支部大会 2014.10.25 京都府立大学稲盛記念会館(京都府・京都市)

油脂の嗜好性形成過程におけるオピオイド系の作用に匂いの質が与える影響 岡藤洋子 第52回日本栄養・食糧学会近畿支部大会 2013.10.26 滋賀県立大学(滋賀県・彦根市)

低濃度油脂と高濃度油脂の嗜好メカニズムの違い 坂本和洋 日本味と匂い学会第47回大会 2013.9.16 仙台市民会館(宮城県・仙台市)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

伏木 亨 (FUSHIKI TOHRU)

龍谷大学・農学部・教授

研究者番号：20135544