

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：34428

研究種目：挑戦的研究(開拓)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H05391・20K20396

研究課題名(和文)トランスとシス-トランス型脂肪酸の人体・食品中濃度、生成機構並びに健康影響の究明

研究課題名(英文) Investigation of trans and cis-trans fatty acid concentrations in humans and foods, production mechanism, and health effects.

研究代表者

太田 壮一(Ohta, Souichi)

摂南大学・薬学部・教授

研究者番号：10213729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究成果の概要としては、1) 研究代表者らが合成したりノール酸(n-6)系及び-リノレン酸(n-3)系のトランス型及びシス・トランス型混合型脂肪酸を標準品として、連結型銀イオンカラムを用いてリサイクルバルブ法による新規HPLC精製法を導入した、高精度GC/MS脂肪酸分析法の確立を達成したこと、また、その分析法を駆使して、2) 種々の食品・食事試料のほか、人体試料(血清、母乳)中のトランス型及びシス・トランス型混合型脂肪酸を高精度定量することにより、上記脂肪酸のヒトに対する「真」の健康影響評価に資する基礎的知見が提供できたことである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義等や社会的意義は、我が国並びに諸外国の既存データ値の根拠に大きな一石を投ずる結果となりうること、またトランス体を含めたシス-トランス型必須脂肪酸が有する健康影響評価に資する有益な知見を提供することが可能となる。加えて、近年、増加傾向にある幼少期の肥満や生活習慣病の予防策、並びに未解明な種々の疾病の誘発因子の解明のための基礎的知見を提供することが可能であり、その社会的波及効果は極めて大きい。

研究成果の概要(英文)：The outline of this research result is as follows: 1) Linoleic acid (n-6)-based and -linolenic acid (n-3)-based trans-type and cis-trans-type mixed fatty acids synthesized by the principal investigators are standard products. As a result, we have achieved the establishment of a high-precision GC / MS fatty acid analysis method by introducing a new HPLC purification method by the recycle valve method using a linked silver ion column, and by making full use of the analysis method, 2) various By quantifying trans-type and cis-trans-type mixed fatty acids in human body samples (serum, breast milk) with high accuracy. Finally, we were able to provide the relevant knowledge for "true" human health evaluation.

研究分野：食品衛生学、疾病予防学

キーワード：トランス型脂肪酸 シス・トランス混合型脂肪酸 高精度定量 GC/MS

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪酸は、二重結合の有無により飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸に分類される。その中、天然の不飽和脂肪酸の二重結合は殆どがシス型を示す。一方、二重結合がトランス体の脂肪酸は、一般にトランス脂肪酸と総称され、水素添加による硬化油製造過程等で非意図的に生成するものと、反芻動物等により合成されるものがあることは古くから知られていた。ところが、2000年代になると、近年の多数の毒性学的知見の集積により、欧州食品安全局 (EFSA) や米国食品医薬品庁 (FDA) は、食品中のトランス脂肪酸を過剰摂取することにより、虚血性心疾患等の疾病の誘発、さらには肝疾患や糖尿病等の疾患のリスク因子として警鐘を鳴らすようになった。それに伴い、世界保健機関 (WHO) は2008年にトランス脂肪酸の摂取量の目安は、ヒトの1日の総エネルギー摂取量の1%以下にすべきであると勧告している。しかし、上記のトランス脂肪酸の健康影響評価の研究事例には、致命的な問題があった。具体的には、従来分析及び毒性研究の対象となったトランス脂肪酸は、全て二重結合がトランス型の不飽和脂肪酸であり、シス-トランス混合型の不飽和脂肪酸に関する、食品や人体レベルに関する報告例が極めて少ないため、ヒトへの健康影響リスクを正確に評価できないのが現状であった。

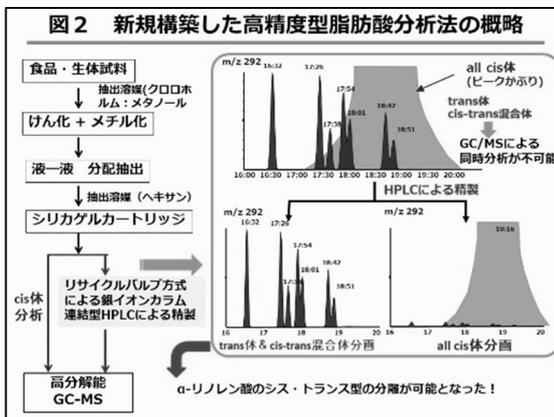
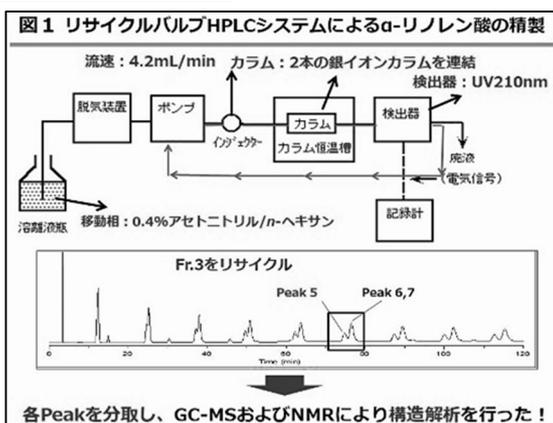
### 2. 研究の目的

研究目的は、代表者らが新規合成したオレイン酸 (n-9 系)、リノール酸 (n-6 系) 及び  $\alpha$ -リノレン酸 (n-3 系) の全トランス及びシス-トランス混合型脂肪酸 (以下、「トランス等脂肪酸」と略称) を測定対象とした、1) 新規合成したトランス等脂肪酸を標準品として組み込んだ高精度脂肪酸分析法の確立、また、その分析法を駆使して、2) 種々の食品・食事試料のほか、人体試料 (血清、母乳) 中のトランス等脂肪酸を高精度定量することにより、上記脂肪酸のヒトに対する「真」の健康影響評価に資する基礎的知見の集積やその社会への提供を目的とした。

### 3. 研究の方法

新規合成したシス・トランス混合型脂肪酸の同定及び定量法の構築：

研究代表者らは、検討 A-1 として、オレイン酸 (n-9 系) に加えて、リノール酸 (n-6 系) と  $\alpha$ -リノレン酸 (n-3 系) の脂肪酸異性体 14 種 (シス体を含む C18:1 9 ; 2 種、C18:2 9,12 ; 4 種、C18:3 9,12,15 ; 8 種) を標準物質として加えた全 59 種類の脂肪酸 (C14 ~ C22) の高精度型定量法の確立を試みた。とりわけ、分離・同定が最も困難である、 $\alpha$ -リノレン酸のシス・トランス混合型脂肪酸の 8 種の異性体の精製法に重点を置いて検討を行った。実験方法は、まず、シス体を除く未市販の  $\alpha$ -リノレン酸 7 種の新規合成を試みた。具体的には、p-トルエン sulfonate を  $\alpha$ -リノレン酸 (シス体) に添加・反応させて、様々なトランス体を含む  $\alpha$ -リノレン酸異性体を生成させた。次に、図 1 に示すように、リサイクルバルブ法を用いた 2 本連結型銀イオンカラム装着 HPLC による精製法を考案、導入し、シス体を除く 3 種のリノール酸と 7 種の  $\alpha$ -リノレン酸異性体の精製・同定を行った。図 2 は、分析法の概略を示しているが、従来 (図の上段チャート) では、同試料中に共存する高濃度のシス体が、超微量のトランス体に対して“ピークかぶり”の現象を起していたが、上記精製法を導入することにより、図の下段の通り、ピークかぶりをすることなく、正確に定量できるようになった。そこで、確立したトランス及びシス・トランス混合型脂肪酸 (以下、トランス等脂肪酸と略称) を含む新規高精度分析法を駆使して、種々の検討を行い、以下の研究成果を得た。



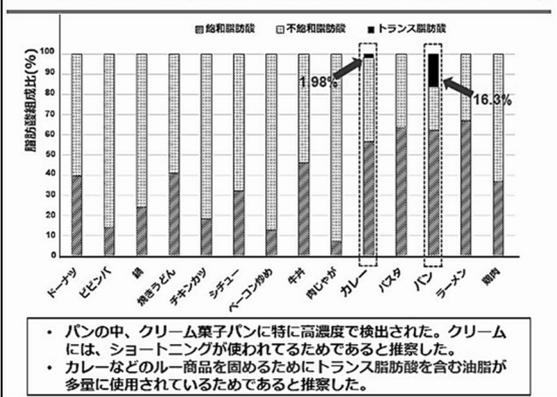
#### 4. 研究成果

#### 人体(血清、母乳)や食品・食事試料中のトランス等脂肪酸組成比及び濃度レベルの解明:

現在市販されているトランス脂肪酸は、エライジン酸(オレイン酸のトランス体; C18:1 9)やバクセン酸(オレイン酸のトランス体: 二重結合の位置の差異; C18:1 11)といった、非共役二重結合が全てトランス型の脂肪酸だけである。ところが、我々が日常摂取している総脂肪酸量の60%以上は、オレイン酸(35%)、リノール酸(20%)、リノレン酸(7%)の3種の脂肪酸で占められ、その中にはシス-トランス混合型の不飽和脂肪酸が高濃度で含まれている可能性が極めて高い。そこで、しかし、現在まで標準品が未市販であったことより、トランス等型脂肪酸の食品・食事・人体中の汚染レベル並びにそれら脂肪酸のヒトへの健康影響に関する報告例は、現在まで皆無であった。図3は、15種の食品・食事試料中の飽和、不飽和、トランス等脂肪酸の濃度組成を比較したものである。各食品中のトランス等脂肪酸の濃度の高低はあったものの、全ての試料中に検出されていた。その中でも、カレーとクリーム菓子パン中には、それぞれ16.3%と1.98%の極めて高いトランス等脂肪酸比が目された。図4は、トランス等脂肪酸に着目して、人体及び食品試料中のそれらの組成比を比較したものである。その結果、チーズからは、牛などの反芻動物由来のバクセン酸が、マーガリンには、リノール酸系のトランス等脂肪酸が高比率で検出された。一方、人体試料の血清試料中には、リノール酸系及びリノレン酸系のトランス等脂肪酸が比較的高比率であったのに対して、母乳試料中には、オレイン酸系のエライジン酸が高比率で存在しており、両者の相関性は認められなかった。表1は、食品及び人体試料中の各脂肪酸の実測濃度を比較したものである。その結果、食品、人体試料の中でも、母乳中の総脂肪酸に対するトランス等脂肪酸の割合が高いとともに、血清試料との相関性は観察されなかった。また、従来の定量法では、トランス等脂肪酸量が未分析であった食品を対象にして、それら試料中の脂肪酸を定量した結果、微量ながらも多くの試料でトランス等脂肪酸が検出された。加えて、総脂肪酸量に対するトランス等脂肪酸の比率は、マーガリンは1.5%、牛乳は0.11%、チーズは0.04%、母乳は4.41%、血清は0.29%であり、人体試料中のトランス等脂肪酸の比率が高いことが注目された。

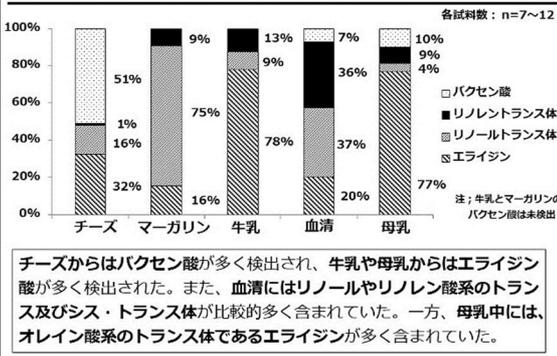
以上、本研究成果は、我が国並びに諸外国の既存データ値の根拠に大きな一石を投ずる結果となりうること、またトランス体を含めたシス-トランス型必須脂肪酸が有する健康影響評価に資する有益な知見を提供することが可能となるものと確信される。

図3 食品及び食事試料中の脂肪酸組成比(油脂100 mg)



- パンの中、クリーム菓子パンに特に高濃度で検出された。クリームには、ショートニングが使われているためであると推察した。
- カレーなどのルー商品を固めるためにトランス脂肪酸を含む油脂が多量に使用されているためであると推察した。

図4 人体及び食品試料中のトランス等脂肪酸組成の比較



チーズからはバクセン酸が多く検出され、牛乳や母乳からはエライジン酸が多く検出された。また、血清にはリノールやリノレン酸系のトランス及びシス・トランス体と比較的多く含まれていた。一方、母乳中には、オレイン酸系のトランス体であるエライジンが多く含まれていた。

表1 食品及び人体試料中の各脂肪酸の実測濃度

脂肪酸	食品試料 (油脂100 gあたり)			人体試料	
	マーガリン	牛乳	チーズ	母乳 (油脂100 g)	血清 (血清1 mL)
飽和脂肪酸	29.52	42.64	3.99	2.76	2.57
不飽和脂肪酸	42.46	6.45	0.44	3.18	4.07
エライジン酸	0.51	0.03	0.001	0.13	0.0007
リノールトランス	0.31	0.02	0.001	0.20	0.0003
リノレントランス	0.01	0.001	N.D.	0.04	0.0007
バクセン酸	N.A.	N.A.	N.D.	0.008	N.D.
総トランス等脂肪酸	0.82	0.051	0.002	0.378	0.0017
トランス等/総脂肪酸(%)	1.15	0.11	0.04	4.41	0.29

※食品試料数: n=7~12、人体試料数: 母乳; n=20、血清n=14  
 ※N.A.: 未検出、※N.D.: 検出下限以下

食品、人体試料の中でも、母乳中の総脂肪酸に対するトランス等脂肪酸の割合が高いとともに、血清試料との相関性は観察されなかった。また、従来の定量法では、トランス等脂肪酸量が未分析であった食品を対象にして、それら試料中の脂肪酸を定量した結果、微量ながらも多くの試料でトランス等脂肪酸が検出された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kautani Hideki, Yuzuriha Tomohiro, Akiyama Ema, Nakao Teruyuki, Ohta Souichi	4. 巻 5
2. 論文標題 Complex toxicity as disruption of adipocyte or osteoblast differentiation in human mesenchymal stem cells under the mixed condition of TBBPA and TCDD	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Toxicology Reports	6. 最初と最後の頁 737-743
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.toxrep.2018.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中尾晃幸、青木未奈、角谷秀樹、杠 智博、太田壮一
2. 発表標題 トランス型脂肪酸摂取マウスにおける脂肪酸分布特性と血中脂質への影響
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Souichi Ohta , Hideki Kakutani, Tomohiro Yuzuriha, Teruyuki Nakao
2. 発表標題 A mixture of TBBPA and TCDD disrupts adipocyte and osteoblast differentiation in human mesenchymal stem cells
3. 学会等名 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中尾 晃幸  (Nakao Teruyuki)  (20288971)	摂南大学・薬学部・准教授    (34428)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	杠 智博  (Yuzuriha Tomohiro)  (10783011)	摂南大学・薬学部・特任助教     (34428)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関