

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350127

研究課題名(和文) TG型 -リノレン酸の摂取はリポジストロフィー(脂肪異常栄養症)を改善できるのか？

研究課題名(英文) Can oral administration of TG type gamma-linolenic acid improve the lipodystrophy?

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「トリアシルグリセロール(TG)型 -リノレン酸(GLA)」の経口摂取により共役リノール酸(CLA)由来のリポジストロフィー症の改善を試みた。

本検証で設定したTG GLAの投与量ではリポジストロフィー症を緩和する作用は弱く、摂取したGLAは肝臓へ含有する割合が低いことを新たに発見することができた。また、母マウスの性状および仔マウスのリポジストロフィー症状を検証したところ、母マウスのCLA摂取は仔のリポジストロフィー発症を誘起することが分かった。また、母マウスのTG GLA摂取は、特に仔雄のリポジストロフィー発症緩和を高めることが新たに判明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried to improve the lipodystrophy syndrome derived from conjugated linoleic acid (CLA) by oral ingestion of "triacylglycerol (TG) type - linolenic acid (GLA)". The mitigation effect of the lipodystrophy syndrome was weaker at a dose of this TG GLA, ingested GLA was able to newly discovered that reducing the content ratio of the liver. In addition, CLA intake of the mother mice was found to induce lipodystrophy onset of pups. Moreover, it was found newly that TG GLA intake of mother mice were enhanced the inhibitory effect of lipodystrophy onset of male pups.

研究分野：食生活学

キーワード：リポジストロフィー 共役リノール酸 TG型 -リノレン酸 母子栄養

1. 研究開始当初の背景

(1) リポジストロフィー症の現状

「**リポジストロフィー症**」は脂肪異常栄養症とも言われ、内臓および皮下などの脂肪組織が極度に減少する疾患である。リポジストロフィー症は糖尿病、腎臓病、抗 HIV 薬の副作用などの合併症として確認されているが、治療法は確立しておらず、その発症メカニズムや栄養学的な改善方法についての研究は世界的に発展途上の段階である。

(2) 応募者のリポジストロフィー症に関するこれまでの研究

共役リノール酸を用いたリポジストロフィー症モデルマウスの作製

応募者は、これまでの研究から、共役リノール酸(CLA)はマウスに長期経口摂取させると内臓脂肪が極度に減少するだけでなく、皮下脂肪の脂質量も極度に減少することを実証した (Oikawa et al., *Lipids* 2003)。これらの事象は、共役リノール酸はリポジストロフィー症モデルとして使用できることを明らかにしてきた。

共役リノール酸由来リポジストロフィー症母マウスと低体重仔マウスとの関連性

CLA 摂取によりリポジストロフィーを発症した母マウスの仔は、生後 2 週目で低体重になることを応募者は報告した (Oikawa, *J. Pet Animal Nutr.* 2007)。しかし、仔マウスの肝臓中脂質量への影響は明らかにしていなかった。

遊離型 -リノレン酸またはトリグリセリド型アラキドン酸摂取によるリポジストロフィーの改善効果

応募者は、脂肪酸の一種である遊離型 -リノレン酸 (GLA) または TG (トリグリセリド) 型アラキドン酸をマウスに経口摂取させることで、共役リノール酸由来の脂肪肝を緩和することに世界で初めて成功した。さらに内臓脂肪の一部が正常の脂質量に回復する傾向も確認した (Nakanishi, Oikawa et al., *Nutrition* 2004)。ただし、遊離型の脂肪酸は毒性があることも考えられ、臨床への応用を念頭に置くと、月見草油など天然にも存在する TG 型 GLA を用いたリポジストロフィーの研究が必要であった。

2. 研究の目的

本研究では、リポジストロフィー症モデルマウスを用いて、「**TG 型 GLA**」の摂取という栄養学的な観点から症状の改善策を探り、発症メカニズムを解明する (図 1)。

具体的には、下記三項目を研究目的とした。

- (1) TG 型 GLA の経口摂取が、リポジストロフィー症を改善できるか否かを明らかにする。
- (2) リポジストロフィー発症母マウスの性別および仔マウスの症状を確認する。
- (3) TG 型 GLA の経口摂取が、リポジストロフィー症母マウスの症状を軽減し、仔マウスへの発症を抑制できるか否かを明らかにする。

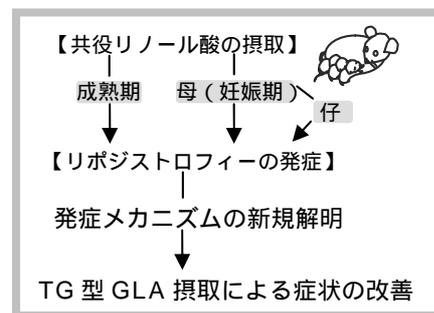


図 1 本研究の流れ

3. 研究の方法

(1) TG 型 GLA の経口摂取によるリポジストロフィー症の改善効果の検証

ICR 雄マウス (4 週齢) 24 匹を MF 飼料で 8 日間飼育し、4 群 (n=6) に群分けした後、AIN93G の粉末飼料の脂質を下記に置換した餌を 4 週間摂取した。

Control 群 : 大豆油 7%

CLA 群 : 大豆油 5% + CLA 油 2%

TG GLA 群 : 大豆油 5% + TG GLA 2%

TG GLA+CLA 群 : 大豆油 3% +

TG GLA 2% + CLA 2%

一週間ごとに体重測定を行い、ローデントカフェを用いて摂取量を測定した。摂取方法は、pair feeding を採用した。4 週間の飼育終了後、肝臓、血液、精巣上体脂肪および腎臓周囲脂肪を採取し、臓器重量の測定および生化学的な手法による脂質分析を実施した。血液はヘパリン処理を施し、血漿を脂質および肝炎の分析に用いた。また、肝臓の脂肪酸同定は本助成金で購入させていただいたガスクロマトグラフィー装置を用いて分析した。

(2) CLA 摂取量の違いによるリポジストロフィー発症度合の検証

(1)にて実施した試験では、CLA 油のリポジストロフィー効果が強すぎたため、3段階の CLA の投与量に関してリポジストロフィーの発症試験を実施した。

ICR 雄マウス(4週齢)24匹を単飼ケージにて馴化後、4群に分け(n=6)、AIN93Gの粉末飼料の脂質を下記に置換した餌を3週間与えた。

- Control 群：大豆油 7%
- CLA 0.5%群：大豆油 6.5% + CLA 油 0.5%
- CLA 1%群：大豆油 6% + CLA 油 1%
- CLA 2%群：大豆油 5% + CLA 油 2%

摂餌方法は、自由摂取とした。飼育後、肝臓、精巢上体脂肪および腎臓周囲脂肪の重量を測定し、血中の分析手法は(1)と同様の事項を実施した。

(3) CLA 摂取母マウスのリポジストロフィー発症確認および仔マウスへの影響の検証

TG 型 GLA の経口摂取によるリポジストロフィー発症母マウスの症状確認および仔マウスへの影響の検証

ICR 雌マウス(8週齢)9匹を MF 飼料で6日間飼育馴化し、3群に分け(n=3)、AIN93Gの粉末飼料の脂質を下記に置換した餌を産後2週まで自由摂取させた。

- Control 群：大豆油 7%
- CLA 群：大豆油 6% + CLA 油 1%
- TG GLA+CLA 群：大豆油 4% + TG GLA2% + CLA1%

雌マウスのケージに ICR 雄マウスを導入し交配期間を設け、交配が確認できた後、雄をケージから外した。母マウスは産後2週において、仔マウスは2週齢で屠殺し、肝臓および腎臓周囲脂肪を採取した後、重量を測定した。

4. 研究成果

(1) TG 型 GLA の経口摂取によるリポジストロフィー症の改善効果の検証

総摂餌量は pair feeding を用いたことにより、全群が同量摂取したことが前提条件となった。CLA 群の体重増加量は、Control 群および TG GLA 群に比して増加量が少ない傾向にあった。一方、TG GLA+CLA 群の体重増加量は Control 群と有意差がない値まで回復した。肝臓重量は CLA 群および TG GLA+CLA 群で Control 群

および TG GLA 群より有意に増加し、肝臓中トリアシルグリセロール量も同様の結果を得た(図2)。一方、精巢上体脂肪および腎臓周囲脂肪の重量は CLA 群および TG GLA+CLA 群で明らかに減少したが、TG GLA+CLA 群の両組織脂肪量は CLA 群より約2倍増加した。血漿分析に関して、TG GLA+CLA 群の遊離脂肪酸濃度は最低値を示した。また同群は CLA 群よりグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)活性を弱めており、TG GLA の添加が肝炎を抑制する可能性が示唆された。肝臓の脂肪酸分析において CLA および TG GLA+CLA 群の CLA が肝臓に顕著に含有したことが確認できた。9cis, 11trans-CLA の肝臓割合は、10trans, 12cis-CLA の2倍以上含有していた。一方、肝臓の GLA 含有率は低く、TG GLA または TG GLA+CLA を摂取しても GLA の肝臓蓄積は少なかった(表1)。

以上の結果より、本検証で設定した TG GLA の投与量では CLA 由来のリポジストロフィー症を緩和する効果は弱いことが分かった。さらに CLA のリポジストロフィー発症強度が高く、用量の検討が必要であることが明らかになった。また、摂取した GLA の肝臓への脂肪酸含有率は低いことが確認できた。

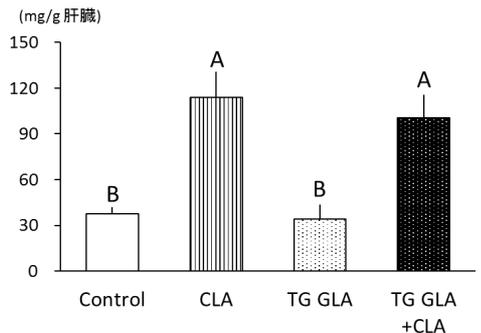


図2 肝臓トリアシルグリセロール量

脂肪酸 (%)	Group			
	Control	CLA	TG GLA	TG GLA + CLA
9cis, 11trans-CLA	-	2.2 ± 0.3	-	2.4 ± 0.3
10trans, 12cis-CLA	-	1.0 ± 0.2	-	1.0 ± 0.2
GLA	0.1 ± 0.03	-	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1

表1 肝臓の CLA および GLA 含有割合

(2) CLA 摂取量の違いによるリポジストロフィー発症度合の検証

精巢上体脂肪および腎臓周囲脂肪の重量は、Control 群より CLA0.5%群で有意に減少し、さらに CLA 1%、2%の用量依存的に低下していた(図3)。また、肝臓重量は Control 群に比して CLA 全群で増加する傾向が見られた。これらのことから、本実験で設定した最低用量の CLA0.5%でリポジストロフィーを発症していることが確認できた。血漿分析において、CLA 油摂取群の遊離脂肪酸(NEFA)濃度は CLA の用量依存的に低くなり、CLA1%および 2%群の TG 濃度は CLA0.5%群と比して有意に低下した。レプチンおよびアディポネクチン濃度は、Control 群と比べ CLA1%および 2%摂取群で顕著に低くなった。一方、GPT 活性値は CLA 摂取で有意に高くなった。

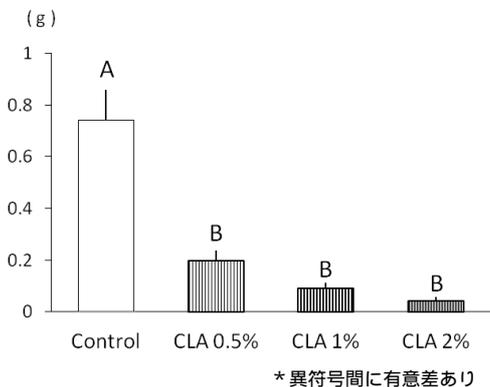


図3 肝臓トリアシルグリセロール量

(3) CLA 摂取母マウスのリポジストロフィー発症確認および仔マウスへの影響の検証

TG 型 GLA の経口摂取によるリポジストロフィー発症母マウスの症状確認および仔マウスへの影響の検証

母マウスの体重増加量は全群で違いは無かった。CLA 群の肝臓重量は Control 群より増加する傾向にあり、TG GLA との混合摂取でさらに増加する傾向にあった。腎臓周囲脂肪に着目すると、CLA 摂取で Control 群より減少傾向になったが、TG GLA の摂取により脂肪重量は回復した。この脂肪重量の結果により、TG GLA は母体のリポジストロフィー症状を緩和する可能性が確認できた。

母マウスの CLA 摂取は Control 群より仔雌マウスの体重および肝臓重量を有意に減少し、TG GLA+CLA 群は CLA 単独摂取より増加していた。しかしながら、腎臓周囲脂肪は

CLA 群と TG GLA+CLA 群との間で有意差はなく、両群とも Control 群より有意に減少していた(図4)。一方、仔雄マウスの腎臓周囲脂肪は CLA 単独摂取で Control 群より減少したが、TG GLA+CLA 摂取群では他の 2 群に比して有意な差は無かった。

これらの結果から、母マウスの CLA 摂取は仔のリポジストロフィーを発症させる可能性があることを確認できた。また、母マウスの TG GLA の摂取による仔のリポジストロフィー緩和作用は雌雄で異なることが示唆された。

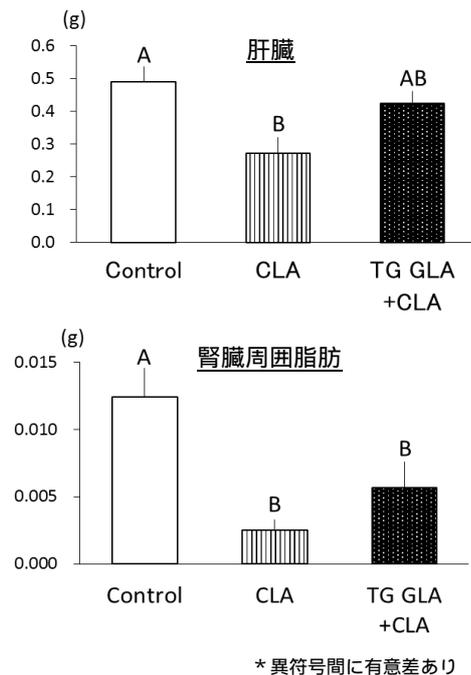


図4 仔雌マウスの肝臓重量 および腎臓周囲脂肪重量

(4) 本研究成果の総括

本研究では、「TG 型 GLA」の経口摂取により CLA 由来のリポジストロフィー症の改善を試みた。本検証で設定した TG GLA の投与量ではリポジストロフィー症を緩和する作用は弱く、摂取した GLA は肝臓へ含有する割合が低いことを新たに発見することができた。また、再検討した CLA の投与量で母マウスの性状および仔マウスのリポジストロフィー症状を検証したところ、母マウスの CLA 摂取は仔のリポジストロフィー発症を誘起することが分かった。また、母マウスの TG GLA 摂取は、仔雌より仔雄のリポジストロフィー発症緩和を高めることが新たに判明した。(図5)

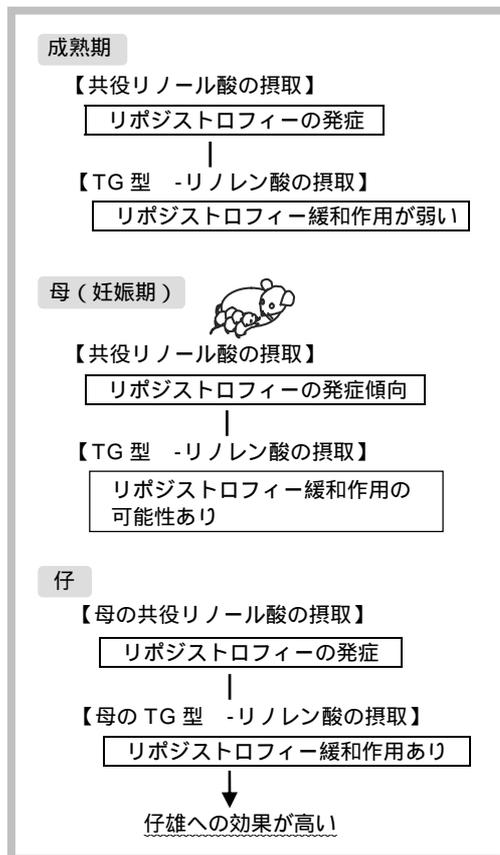


図5 本研究のまとめ

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

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1件)

及川大地・岸本梨江・谷口由夏・本村菜摘、
共役リノール酸の摂取が脂質代謝に与える影響、
日本家政学会第67回大会、2015年5月24日、
アイーナ盛岡(岩手県・盛岡市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

(1) 長崎大学 個人業績

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

(2) researchmap

<http://researchmap.jp/read0129196>