

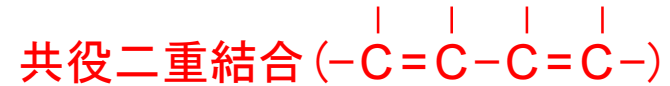
第1回機能性油脂懇話会  
平成22年10月2日(土)

# 共役リノレン酸含有油脂の脂質代謝調節機能

長崎県立大学シーボルト校 看護栄養学部栄養健康学科

古 場 一 哲

# 共役脂肪酸の構造



## 必須脂肪酸

リノール酸 ( $9c,12c-18:2$ )

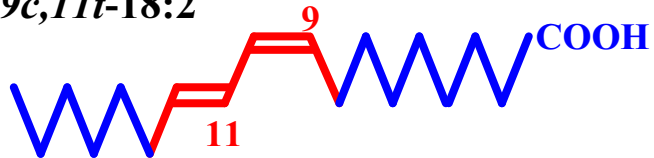


$\alpha$ -リノレン酸 ( $9c,12c,15c-18:3$ )

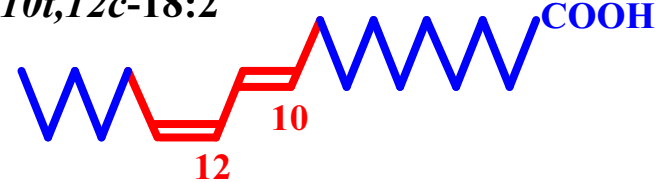


## 共役リノール酸 (CLA)

$9c,11t-18:2$

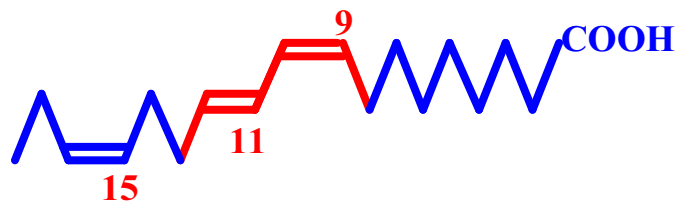


$10t,12c-18:2$

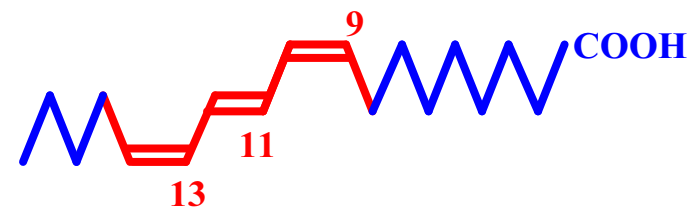


## 共役リノレン酸 (CLN)

共役ジェン型  
 $9c,11t,15c-18:3$



共役トリエン型  
 $9c,11t,13c-18:3$



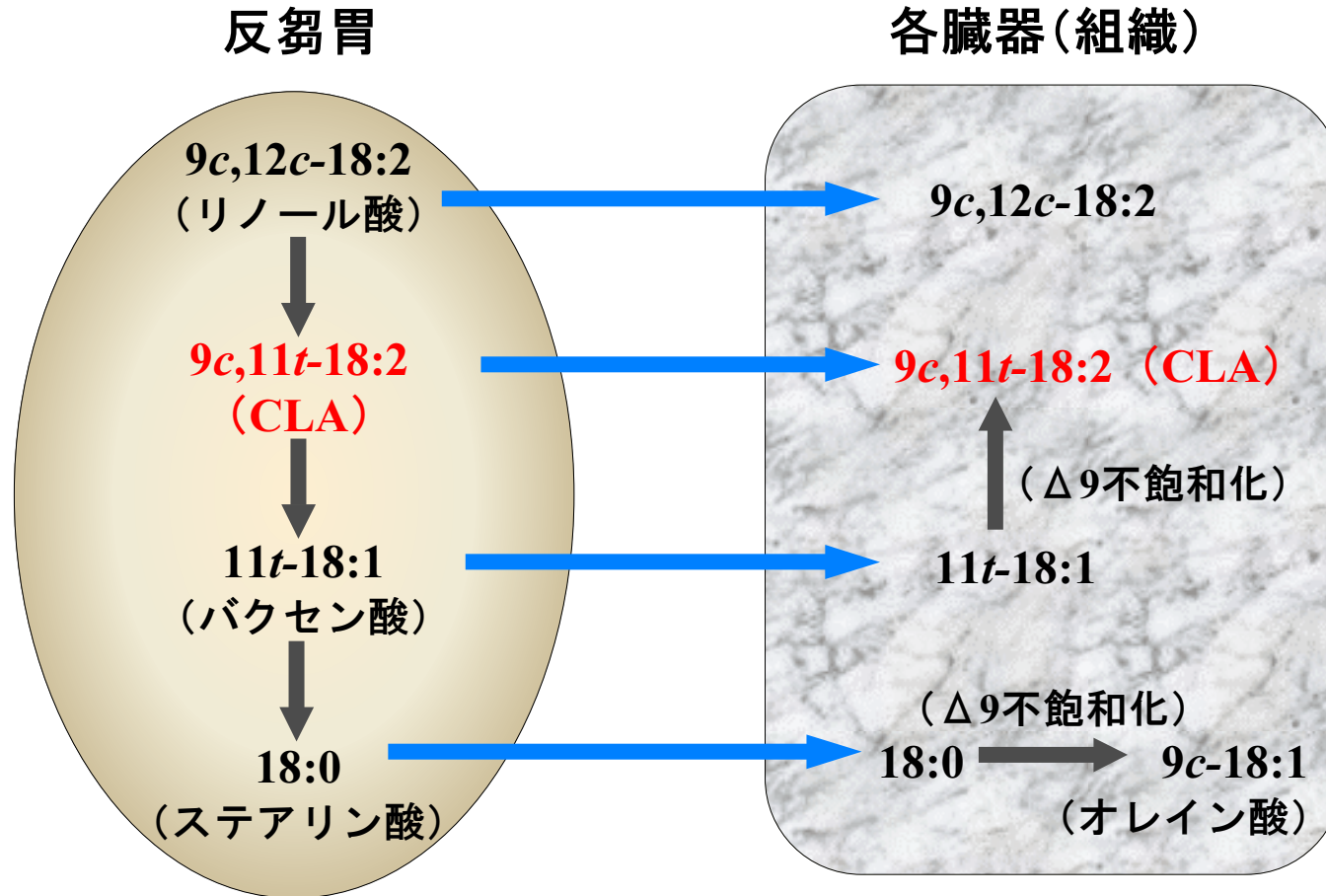
## 種々の食品に含まれるCLAの割合

食 品	総CLA (mg/g fat)	9c,11t (%)	食 品	総CLA (mg/g fat)	9c,11t (%)
肉類・魚介類など			乳製品		
牛 肉	4.3	85	牛 乳	5.5	92
子牛肉	2.7	84	バター	4.7	88
羊 肉	5.6	92	ヨーグルト	4.8	84
豚 肉	0.6	82	アイスクリーム	3.6	86
鶏 肉	0.9	84	クリームチーズ	3.8	88
卵 黄	0.6	-	チェダーチーズ	3.6	93
さ け	0.3	-	パルメザンチーズ	3.0	90
え び	0.6	-	アメリカンプロセスチーズ	5.0	93
ほたて貝	0.3	-			
			油脂類		
			牛 脂	2.6	84
			なたね油	0.5	44
			コーン油	0.2	39
			サフラワー油	0.7	44
			オリーブ油	0.2	47

-: 検出限界未満

Chin et al. *J. Food Comp. Anal.*, 5, 187 (1992)

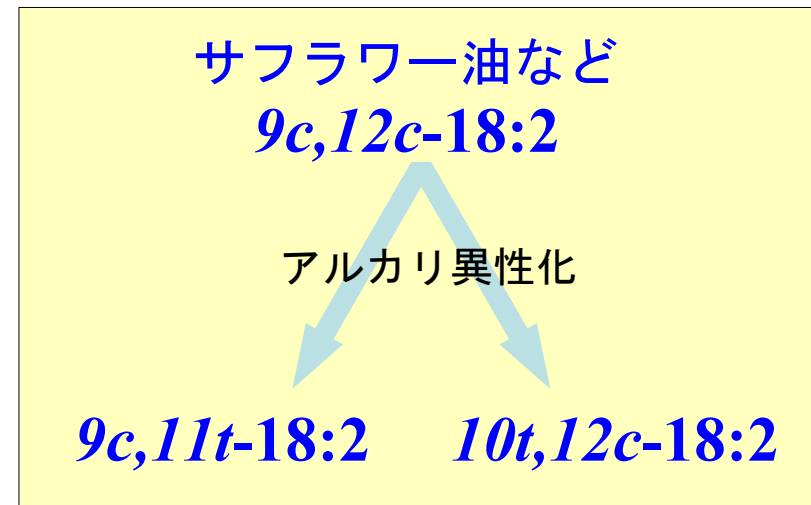
# 反芻動物によるCLAの生合成



生物学的水素添加反応  
(Biohydrogenation)

# CLAの生理作用

- 抗変異原性
- 発がん抑制作用（乳がん・皮膚がんなど）
- **体脂肪低減（抗肥満）作用**
- 抗糖尿病作用
- 抗動脈硬化作用
- 免疫機能改善
- 血圧上昇抑制作用
- 骨代謝改善
- リノール酸代謝・エイコサノイド産生への干渉
- 動物の成長促進作用・飼料効率の向上



# 共役リノレン酸 (CLN) 研究の背景と目的

---

- 一般に、不飽和度の高い脂肪酸は血清脂質濃度低下作用を示す
- CLA以外の共役脂肪酸についてはどうか？

## CLN含有油脂

- $\alpha$ -リノレン酸のアルカリ異性化物
- ある種の植物種子油(ニガウリ、ザクロなど)

## 生理作用

- CLNの抗がん作用が報告
- CLNの体脂肪および脂質代謝への影響

# アルカリ異性化によるCLNの合成

$\alpha$ -リノレン酸 ( $9c,12c,15c-18:3$ )



プロピレングリコール  
KOH

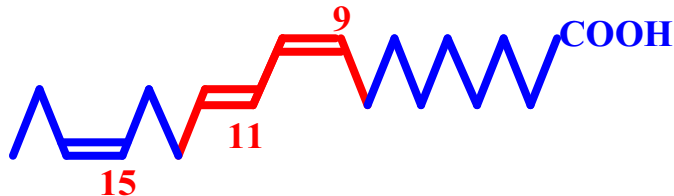
減圧下  
160°C  
1hr

アルカリ異性化

共役リノレン酸 (CLN)混合物

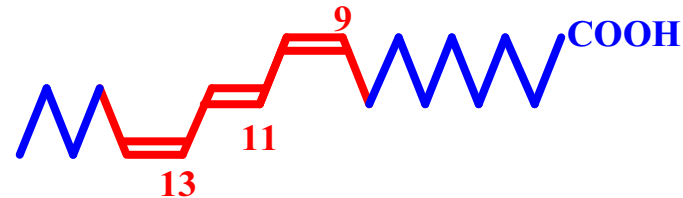
共役ジエン型

例)  $9c,11t,15c-18:3$

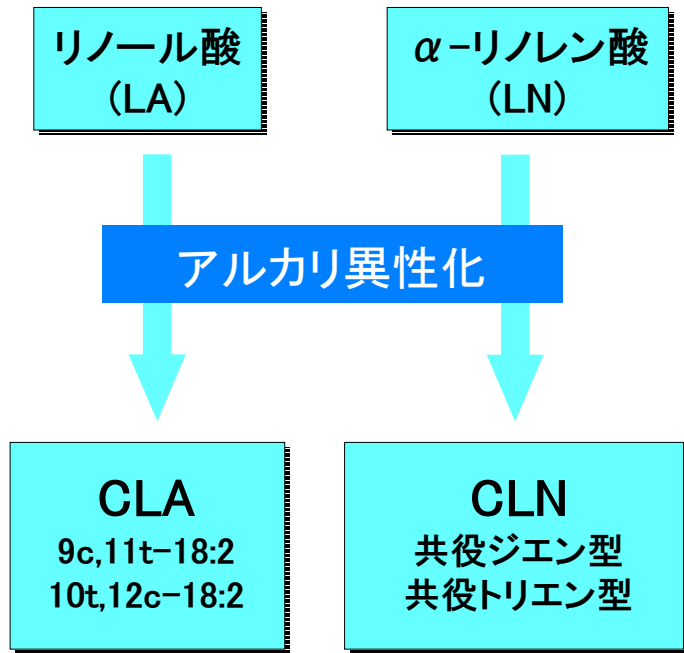


共役トリエン型

例)  $9c,11t,13c-18:3$  (プニカ酸)



# アルカリ異性化CLNの効果(CLAとの比較)



試験油(脂肪酸)の脂肪酸組成

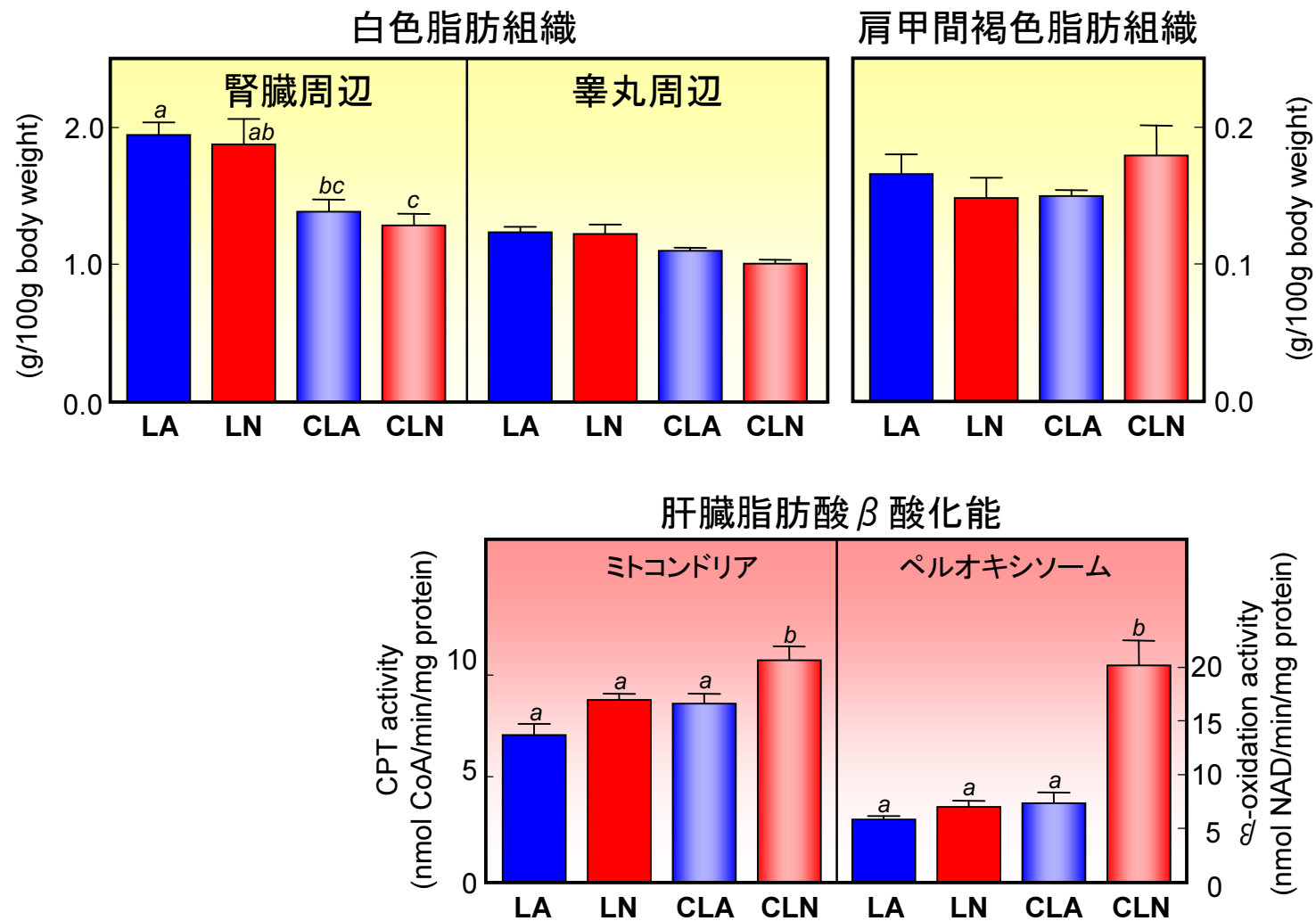
脂肪酸	試験油			
	LA (サフラワー油)	LN (シソ油)	CLA	CLN
	(weight %)			
16:0	7.4	5.8	7.4	5.9
18:0	2.6	1.6	2.7	1.6
18:1n-9	17.7	13.6	17.8	14.2
18:2n-6	<b>70.9</b>	<b>21.9</b>	1.5	0.5
18:3n-3	0.3	<b>55.5</b>	-	-
<b>CLA</b>	-	-	<b>68.9</b>	<b>24.7</b>
(9c,11t)	-	-	(31.8)	(8.0)
(10t,12c)	-	-	(32.7)	(15.1)
(others)	-	-	(4.6)	(1.6)
<b>CLN</b>	-	-	-	<b>49.1</b>
(conjugated diene)	-	-	-	(31.9)
(conjugated triene)	-	-	-	(17.2)

● 食餌 (AIN-93G)  
食餌脂肪 7%  
{ 6% 大豆油  
  **1% 試験油**

● SD系雄ラット  
● 4週間自由摂食



# アルカリ異性化CLN摂取がラットの脂肪組織重量 および肝臓の脂肪酸 $\beta$ 酸化能に及ぼす影響



CPT: carnitine palmitoyl transferase.  
Mean  $\pm$  SE of 8 rats. *ab*: Different letters at  $p < 0.05$ .

# アルカリ異性化CLNの効果(摂取量の影響)

## 試験油(脂肪酸)の脂肪酸組成

脂肪酸	LN	CLN
	(weight %)	
18:1n-9	5.4	5.6
18:2n-6	19.2	7.3
18:3n-3	75.3	0.5
<b>CLA</b>		<b>18.4</b>
(9c,11t)	-	(6.2)
(10t,12c)	-	(7.1)
(others)	-	(5.1)
<b>CLN</b>	-	<b>(67.6)</b>
(conjugated diene)	-	(47.8)
(conjugated triene)	-	(19.8)

● 食餌 (AIN-93G)

食餌脂肪 7%

{ 6% 大豆油

{ **1% 試験油**

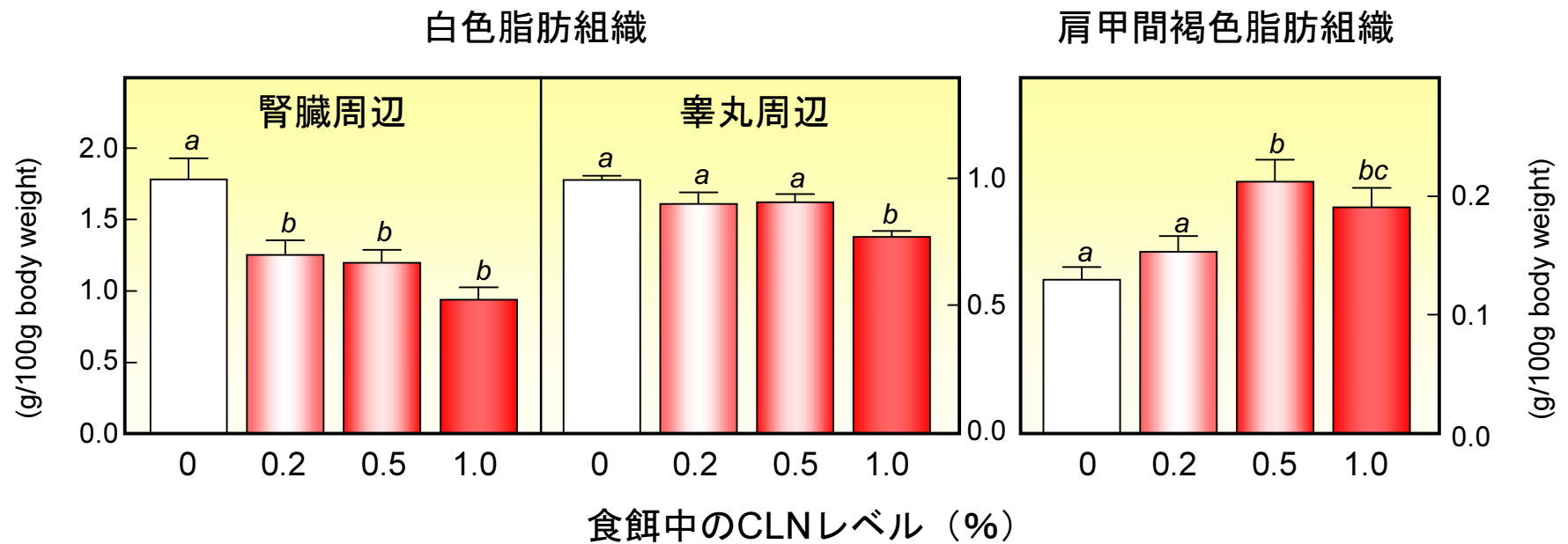
● SD系雄ラット

● 4週間自由摂食

## 実験群 (CLN level)

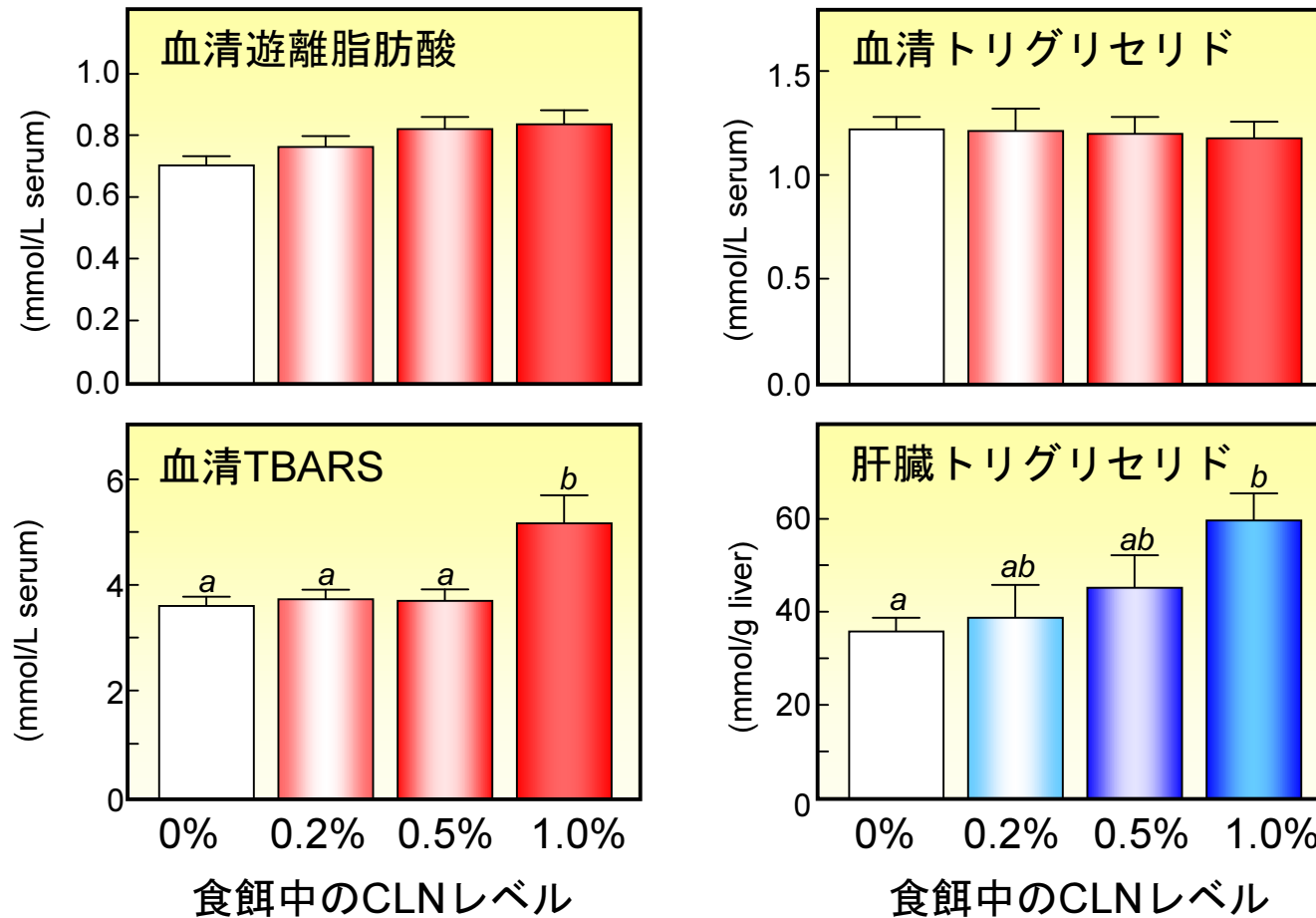
	0%	0.2%	0.5%	1.0%
	g/100g diet			
<b>CLN</b>	<b>0</b>	<b>0.2</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>
LN	1	0.8	0.5	0

# アルカリ異性化CLNの摂取量の違いが ラットの脂肪組織重量に及ぼす影響



Mean  $\pm$  SE of 8 rats. ab: Different letters at  $p < 0.05$ .

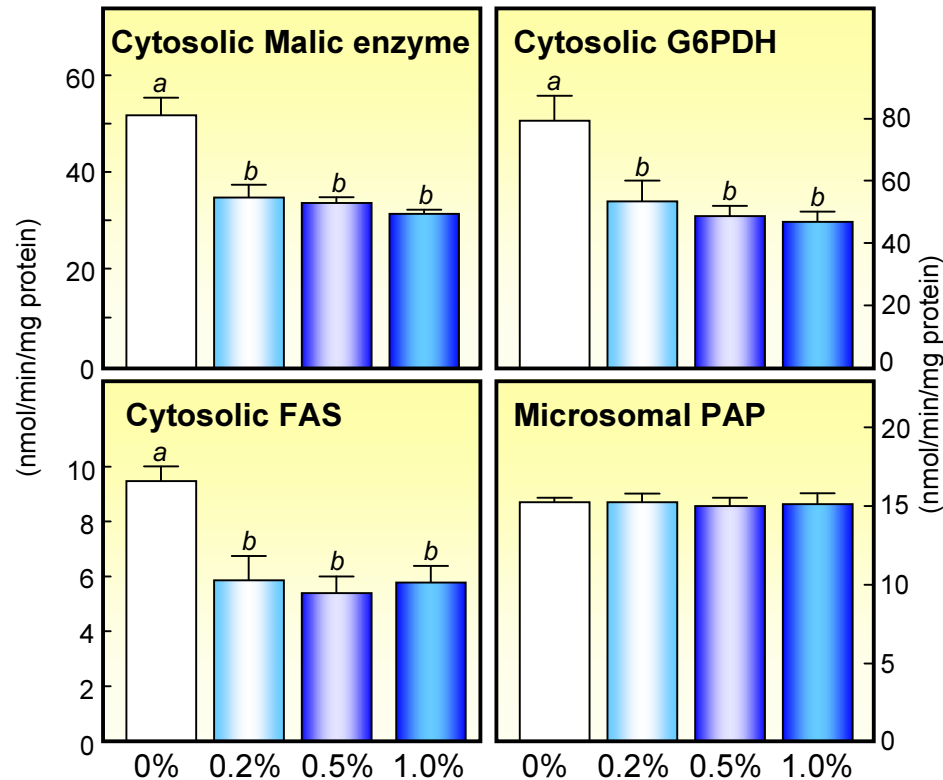
# アルカリ異性化CLNの摂取量の違いが血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響



TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.  
Mean  $\pm$  SE of 8 rats. ab: Different letters at  $p < 0.05$ .

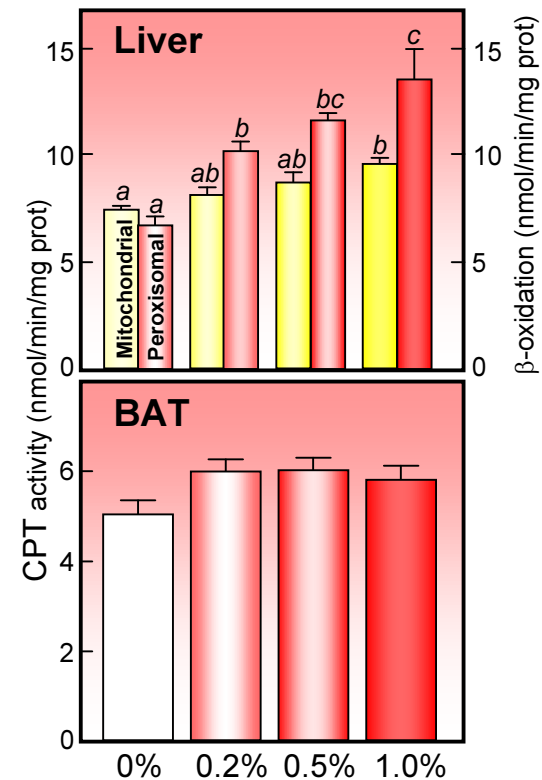
# アルカリ異性化CLNの摂取量の違いが 脂肪酸合成系および $\beta$ 酸化系酵素活性に及ぼす影響

## 肝臓脂肪酸合成系酵素



食餌中のCLNレベル

## 脂肪酸 $\beta$ 酸化能

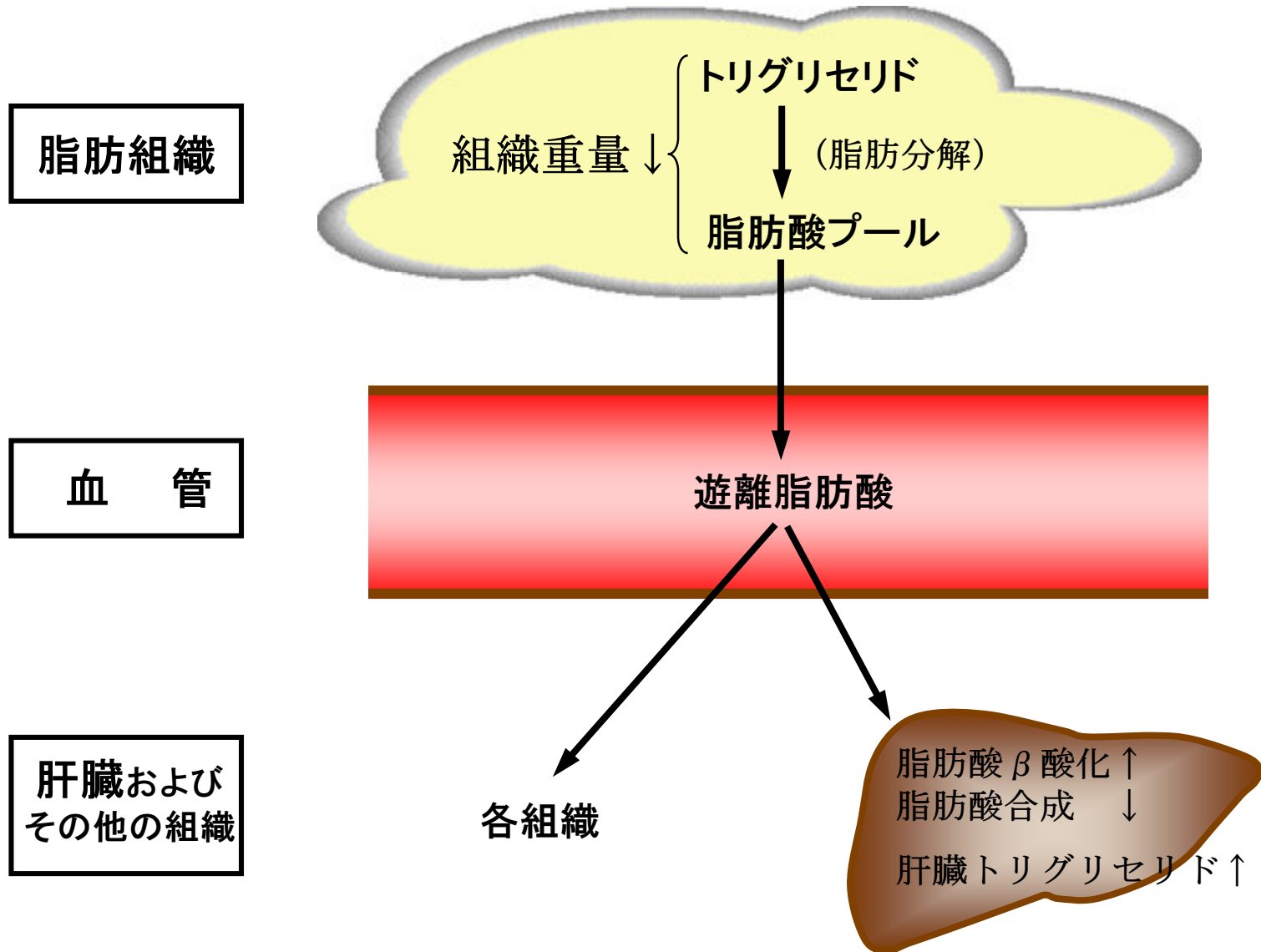


食餌中のCLNレベル

G6PDH: glucose 6-phosphate dehydrogenase  
FAS: fatty acid synthase  
PAP: phosphatidic acid phosphohydrolase

CPT: Carnitine palmitoyl transferase  
Mean  $\pm$  SE of 8 rats.  
ab: Different letters at p < 0.05.

# CLNの体脂肪低減作用



# 共役リノレン酸含有油脂の体脂肪低減効果

---

CLNの摂取が脂肪組織重量や血清・肝臓脂質濃度にどのように影響するかについて動物実験で検討

●  $\alpha$ -リノレン酸のアルカリ異性化物の効果

● CLN含有植物種子油の効果

# CLN含有植物種子油の効果



ニガウリ (BGO)  
α-エレオステアリン酸  
(9c,11t,13t-18:3)



ザクロ (PGO)  
プニカ酸  
(9c,11t,13c-18:3)



キササゲ (CTO)  
カタルピン酸  
(9t,11t,13c-18:3)



キンセンカ (PMO)  
カレンディン酸  
(8t,10t,12c-18:3)

- 食餌 : AIN-93G (食餌脂肪 7%)
- SD系雄ラット
- 4週間自由摂食

## 食餌脂肪の脂肪酸組成\*

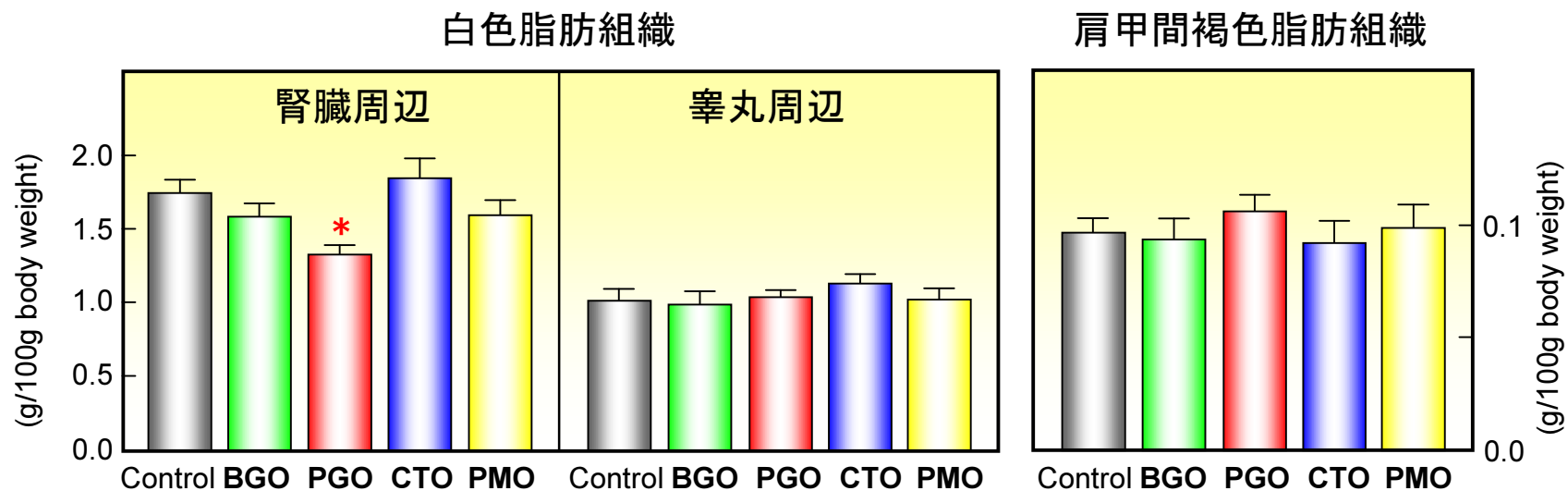
	実験群				
	Control	BGO	PGO	CTO	PMO
	(weight %)				
16:0	10.0	9.2	9.7	8.7	9.4
18:0	3.7	7.3	3.5	3.4	3.4
18:1n-9	22.1	19.7	20.5	18.9	19.3
18:1n-7	2.0	1.8	1.9	1.6	1.8
18:2n-6	48.7	45.2	47.4	50.5	49.1
18:3n-3	11.6	4.8	5.0	4.4	4.8
<b>CLN</b>	<b>CLN</b>	<b>CLN</b>	<b>CLN</b>	<b>CLN</b>	<b>CLN</b>
α-エレオステアリン酸 (9c,11t,13t-18:3)	-	<b>9.8</b>	<b>0.5</b>	-	-
プニカ酸 (9c,11t,13c-18:3)	-	-	<b>9.3</b>	-	-
カタルピン酸 (9t,11t,13c-18:3)	-	-	-	<b>10.0</b>	-
カレンディン酸 (8t,10t,12c-18:3)	-	-	-	-	<b>10.0</b>

Control : アマニ油 (α-リノレン酸)

\*大豆油と混合してCLNレベルを10%に調整



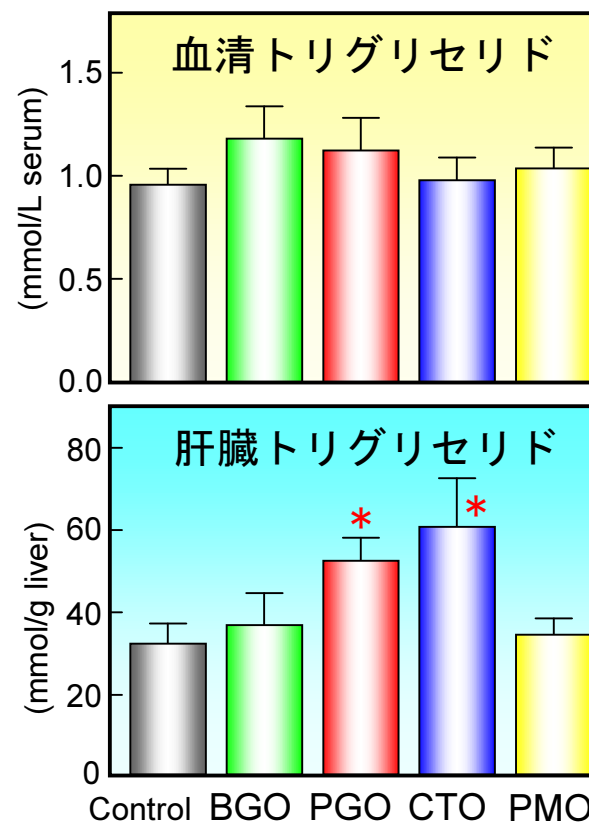
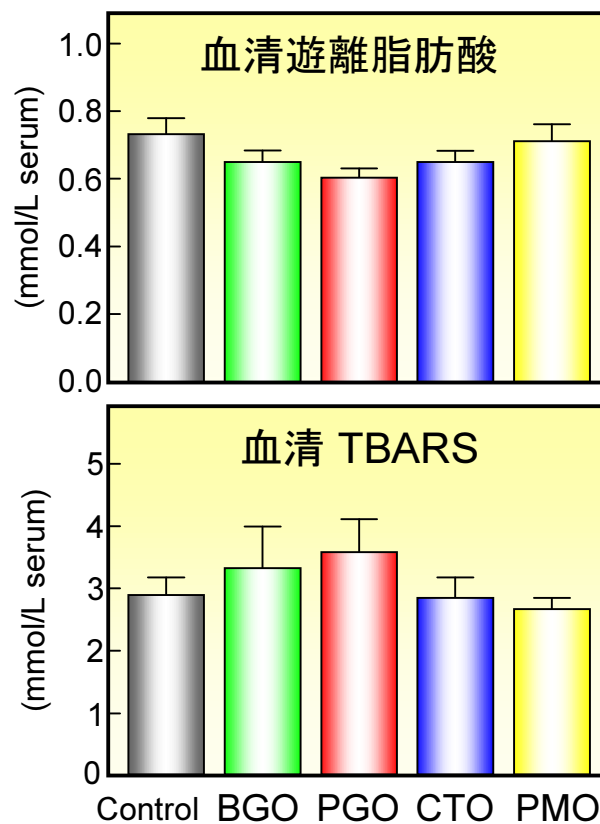
# CLN含有種子油の摂取が ラット脂肪組織重量に及ぼす影響



Control : 対照 (9c,12c,15c-18:3)  
 BGO : ニガウリ (9c,11t,13t-18:3)  
 PGO : ザクロ (9c,11t,13c-18:3)  
 CTO : キササゲ (9t,11t,13c-18:3)  
 PMO : キンセンカ (8t,10t,12c-18:3)

Mean  $\pm$  SE of 7 rats.  
 \*Significantly different from the control group at  $p < 0.05$ .

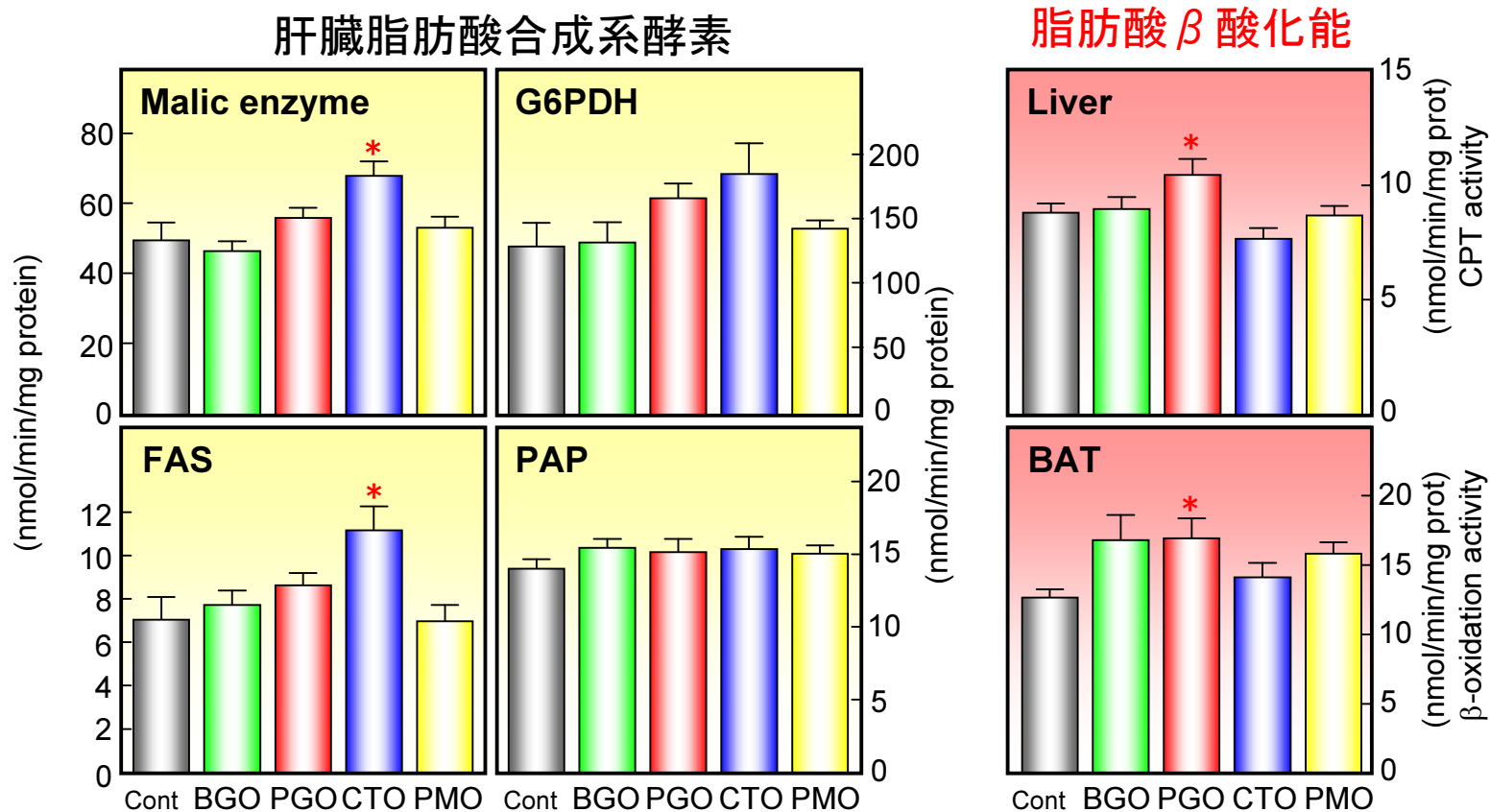
# CLN含有種子油の摂取が血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響



Control : 対照 (9c,12c,15c-18:3)  
 BGO : ニガウリ (9c,11t,13t-18:3)  
 PGO : ザクロ (9c,11t,13c-18:3)  
 CTO : キササゲ (9t,11t,13c-18:3)  
 PMO : キンセンカ (8t,10t,12c-18:3)

TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.  
 Mean  $\pm$  SE of 7 rats.  
 \*Significantly different from the control group at  $p < 0.05$ .

# CLN含有種子油の摂取が脂肪酸合成系およびβ酸化系酵素活性に及ぼす影響







Control : 対照 (9c,12c,15c-18:3)  
 BGO : ニガウリ (9c,11t,13t-18:3)  
 PGO : ザクロ (9c,11t,13c-18:3)  
 CTO : キササゲ (9t,11t,13c-18:3)  
 PMO : キンセンカ (8t,10t,12c-18:3)

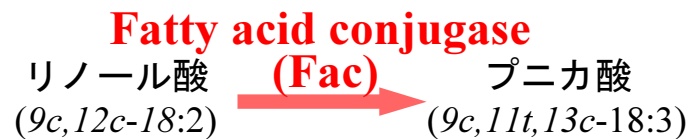
G6PDH: glucose 6-phosphate dehydrogenase  
 FAS: fatty acid synthase  
 PAP: phosphatidic acid phosphohydrolase  
 CPT: Carnitine palmitoyl transferase  
 Mean ± SE of 6 or 7 rats.

\*Significantly different from the control group at p<0.05.

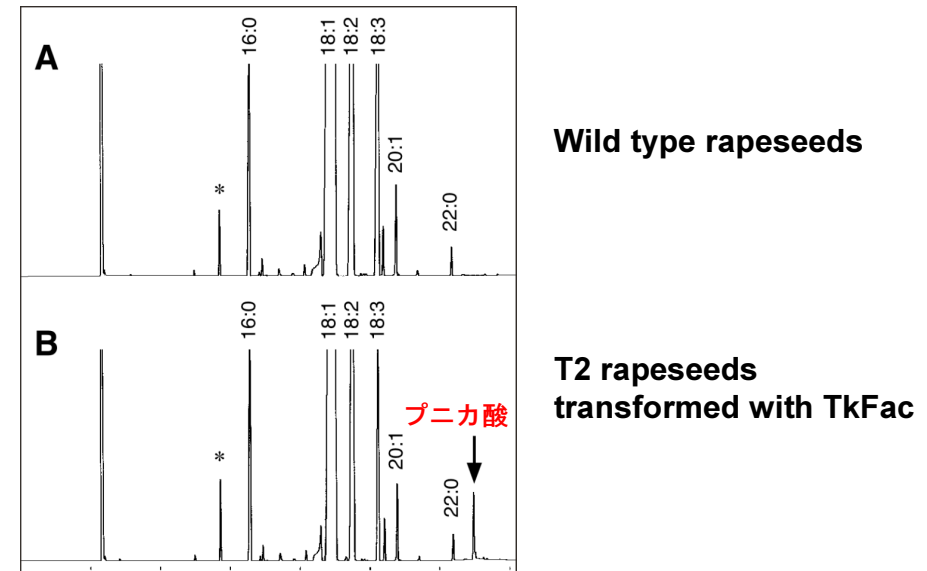
# CLN含有種子油の効果（ラット）

	 ニガウリ (BGO) α-エロオステアリン酸 <i>9c,11t,13t-18:3</i>	 ザクロ (PGO) プニカ酸 <i>9c,11t,13c-18:3</i>	 キササゲ (CTO) カタルピン酸 <i>9t,11t,13t-18:3</i>	 キンセンカ (PMO) カレンディン酸 <i>8t,10t,12c-18:3</i>
白色脂肪組織重量	±	↓	±	±
血清TG濃度	±	±	±	±
肝臓TG濃度	±	↑	↑	±
脂肪酸β酸化能	±	↑	±	±
脂肪酸合成能	±	±	↑	±

# アグロバクテリウム法による遺伝子組換え -プニカ酸含有なたね油の作出-



なたねから抽出した総脂質の脂肪酸分析



## Plant expression vector “pKN-TkFac”



**Napin (promoter):** *B.napus* napin gene  
**TkFac:** fatty acid conjugase gene from *T. kirilowii*  
**Nos (terminator):** nopaline synthase gene

## 遺伝子組換えなたね油の脂肪酸組成

	16:0	18:0	18:1 (n-9)	18:2 (n-6)	18:3 (n-3)	プニカ酸
RSO	4.2	1.5	62.3	19.3	9.8	<b>0.0</b>
GMRO	5.3	1.7	66.5	16.3	4.0	<b>2.5</b>

RSO: なたね油, GMRO: 組換えなたね油

# マウスにおけるプニカ酸含有種子油摂取の効果

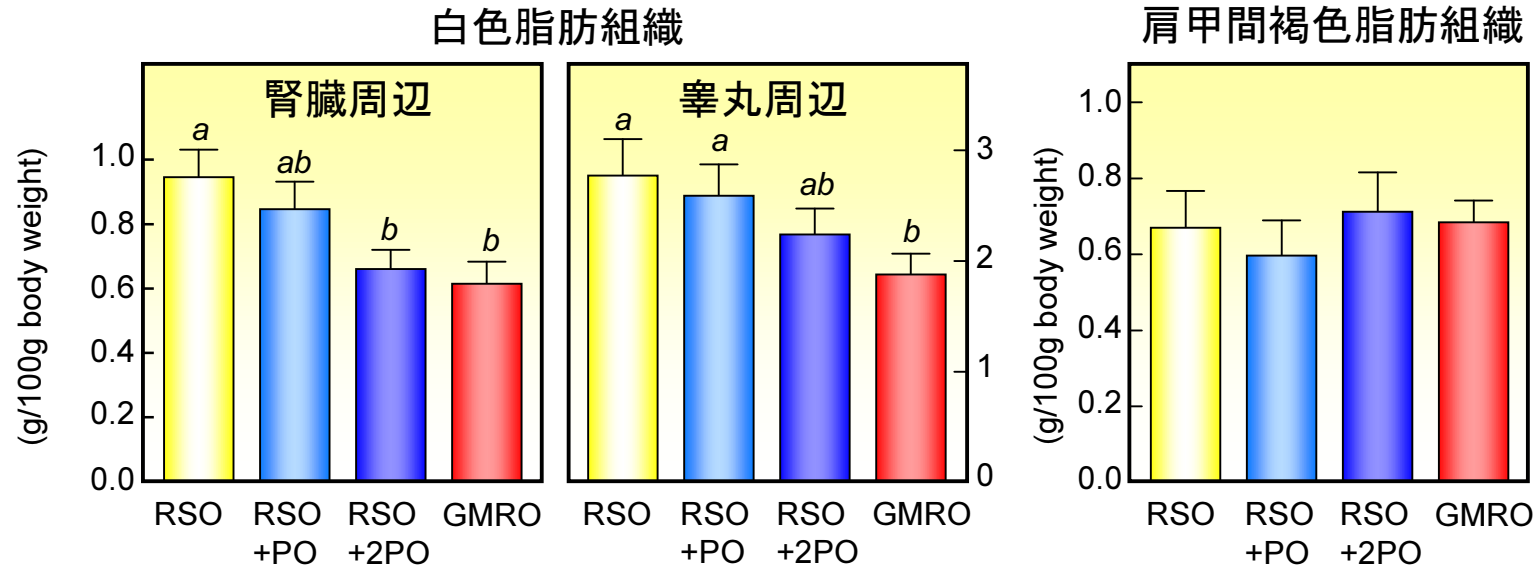
## 食餌脂肪の脂肪酸組成

Fatty acids	実験群			
	RSO	RSO+PO	RSO+2PO	GMRO
	(weight %)			
16:0	4.1	4.1	4.0	5.0
18:0	1.5	1.5	1.5	1.7
18:1n-9	62.5	60.8	59.0	68.4
18:2n-6	19.3	18.9	18.4	15.3
18:3n-3	9.8	9.5	9.2	3.8
<b>9c,11t,13c-18:3</b>	<b>0.0</b>	<b>2.5</b>	<b>5.0</b>	<b>2.5</b>

RSO: ナタネ油, PO: ザクロ油, GMRO: 組換えナタネ油

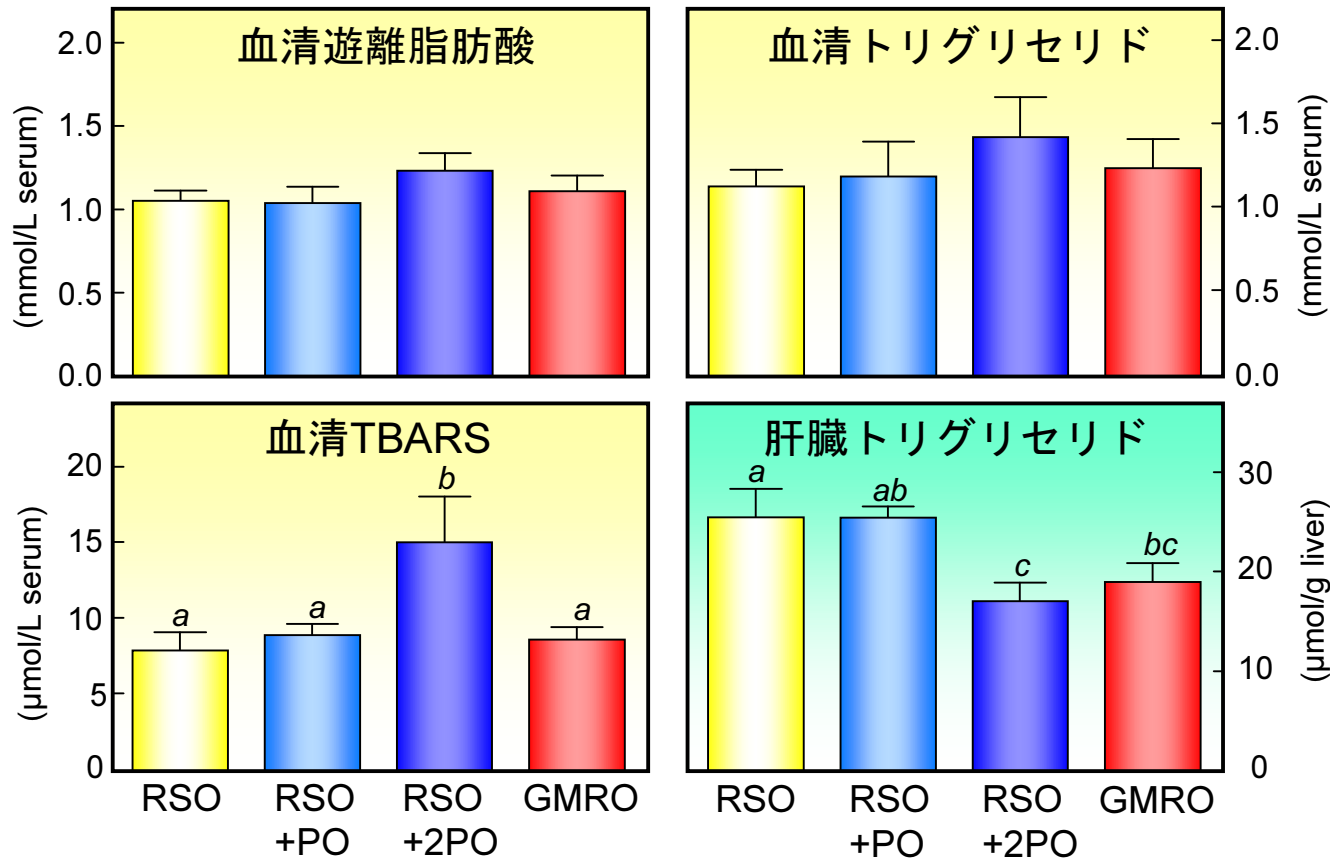
- 食餌 : AIN-93G (食餌脂肪 10%)
- 動物 : ICR CD-1 雄マウス
- 4週間自由摂食

# プニカ酸含有種子油の摂取がマウスの脂肪組織重量に及ぼす影響



RSO: ナタネ油, PO: ザクロ油, GMRO: 組換えナタネ油  
 Mean  $\pm$  SE of 5 or 6 mice. *ab*: Different letters at  $p < 0.05$ .

# プニカ酸含有種子油の摂取がマウスの血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響



TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.  
Mean  $\pm$  SE of 5 or 6 mice. *ab*: Different letters at  $p < 0.05$ .



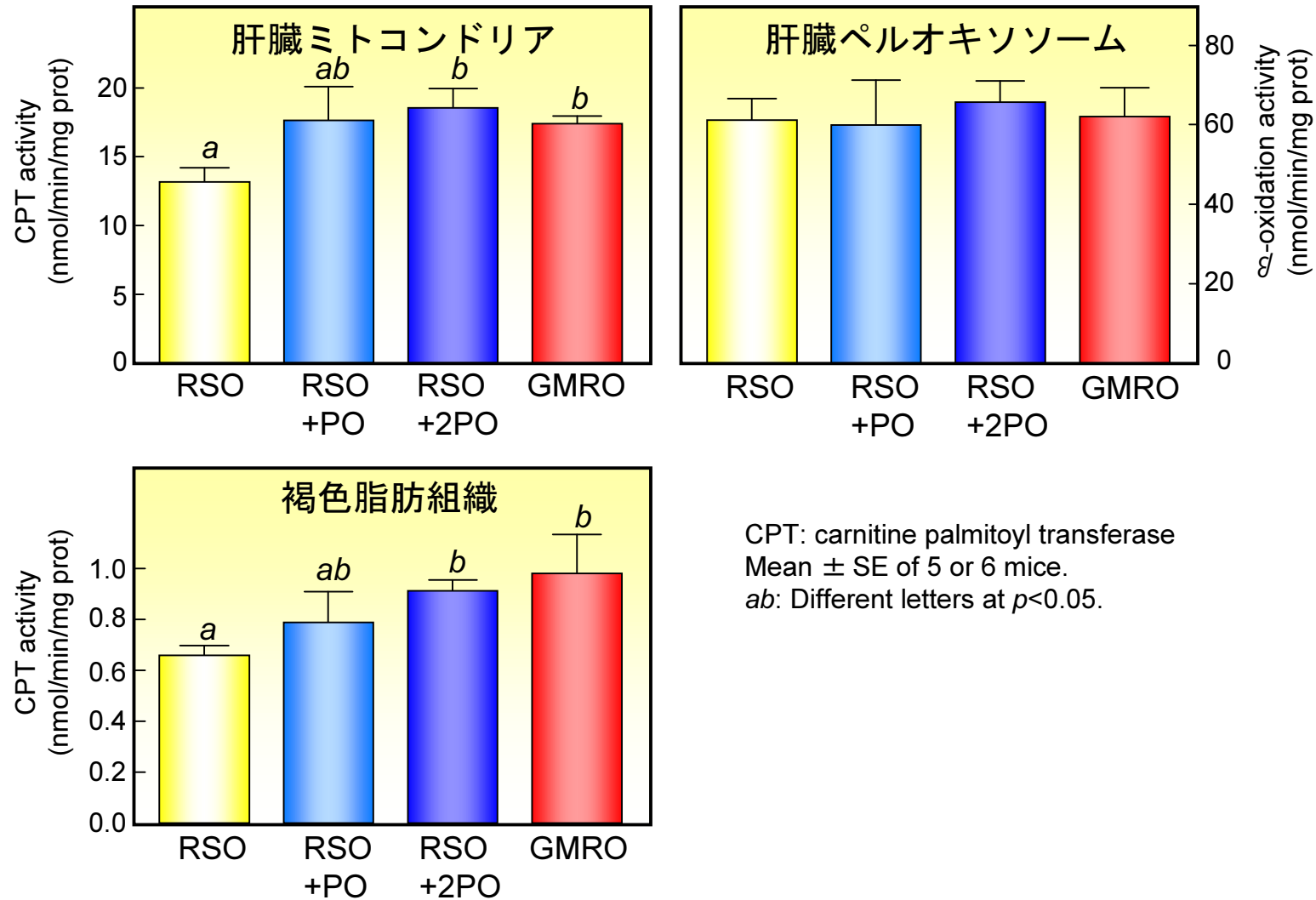
## 肝臓リン脂質およびトリグリセリド画分の脂肪酸組成

	リン脂質				トリグリセリド			
	RSO	RSO+PO	PSP+2PO	GMRO	RSO	RSO+PO	PSP+2PO	GMRO
16:0	34.1	30.8	31.1	31.1	25.0	26.3	24.8	28.3
16:1	0.3	0.3	0.4	0.3	1.9	1.7	1.9	1.9
18:0	17.6	17.7	15.5	15.4	1.7	2.0	1.5	1.7
18:1n-9	9.4 <sup>a</sup>	9.5 <sup>a</sup>	9.3 <sup>a</sup>	12.1 <sup>b</sup>	47.4	44.1	42.3	48.0
18:2n-6	12.9	13.3	13.2	11.3	14.2 <sup>a</sup>	12.4 <sup>ab</sup>	14.0 <sup>a</sup>	9.9 <sup>b</sup>
18:3n-3	0.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.1 <sup>b</sup>	2.7 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	2.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>
20:3n-6	1.8	2.0	1.8	2.1	0.4	0.4	0.4	0.3
20:4n-6	8.9 <sup>a</sup>	11.5 <sup>b</sup>	10.0 <sup>ab</sup>	13.2 <sup>c</sup>	0.4	0.4	0.5	0.6
20:5n-3	1.6 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>	0.3 <sup>a</sup>
22:5n-6	0.5	0.5	0.5	0.4	0.8 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	0.8 <sup>a</sup>	0.3 <sup>b</sup>
22:6n-3	10.0	10.7	10.3	10.4	1.2 <sup>ab</sup>	1.7 <sup>bc</sup>	2.0 <sup>c</sup>	0.8 <sup>a</sup>
<b>9c,11t-18:2</b>	<b>0.00<sup>a</sup></b>	<b>0.12<sup>b</sup></b>	<b>0.44<sup>c</sup></b>	<b>0.30<sup>c</sup></b>	<b>0.02<sup>a</sup></b>	<b>0.58<sup>b</sup></b>	<b>1.73<sup>c</sup></b>	<b>0.95<sup>d</sup></b>
<b>9c,11t,13c-18:3</b>	<b>0.00<sup>a</sup></b>	<b>0.07<sup>b</sup></b>	<b>0.12<sup>c</sup></b>	<b>0.09<sup>d</sup></b>	<b>0.01<sup>a</sup></b>	<b>0.43<sup>b</sup></b>	<b>0.89<sup>c</sup></b>	<b>0.47<sup>b</sup></b>

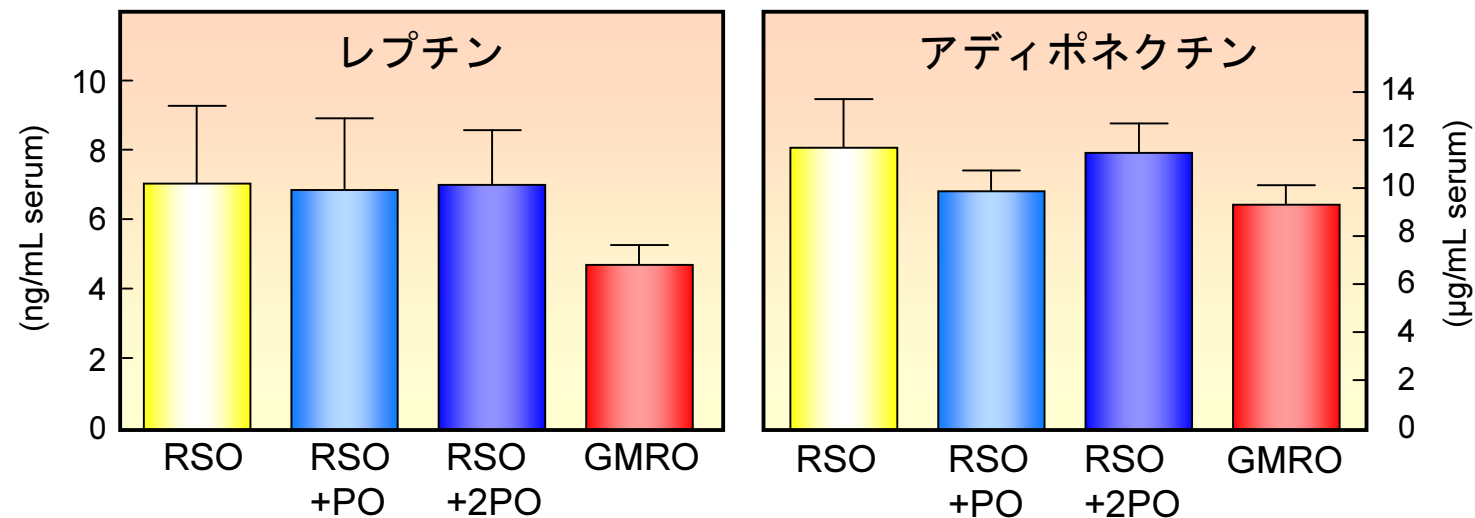
Mean of 5 or 6 mice. <sup>ab</sup>Different letters at  $p < 0.05$ .



# プニカ酸含有種子油の摂取がマウスの脂肪酸 $\beta$ 酸化能に及ぼす影響



# プニカ酸含有種子油の摂取が 血清アディポサイトカイン濃度に及ぼす影響



Mean  $\pm$  SE of 5 or 6 mice.

# 共役リノレン酸含有油脂の体脂肪低減効果

---

## $\alpha$ -リノレン酸のアルカリ異性化物

- CLAと同等以上の体脂肪低減効果
- 摂取量依存的な効果
- 脂肪酸 $\beta$ 酸化の亢進  
脂肪酸合成の抑制

## CLN含有種子油

- CLN異性体により異なる効果
- ザクロ種子油のプニカ酸 ( $9c,11t,13c$ -18:3) に脂肪組織重量低下作用
- プニカ酸含有組換えナタネ油にも脂肪組織重量低下作用