

第10回CLA懇話会シンポジウム 平成20年10月4日(土)

共役リノレン酸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 ($9c,12c-18:2$)



α -リノレン酸 ($9c,12c,15c-18:3$)



共役リノール酸 (CLA)

$9c,11t-18:2$



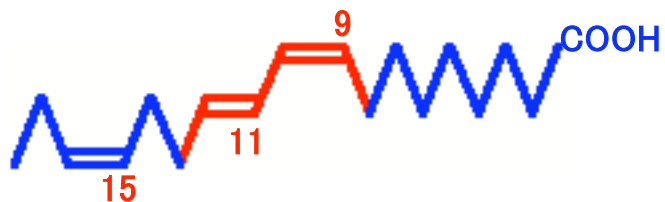
$10t,12c-18:2$



共役リノレン酸 (CLN)

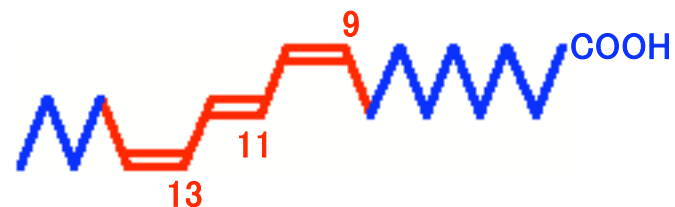
共役ジェン型

$9c,11t,15c-18:3$



共役トリエン型

$9c,11t,13c-18:3$



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？

共役リノレン酸 (CLN)

CLN源

- α -リノレン酸のアルカリ異性化
- 一部の種子(ニガウリ、ザクロなど)中に特定のCLNが存在

生理作用

- CLNの抗ガン作用が報告
- 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

α -リノレン酸 ($9c,12c,15c-18:3$)



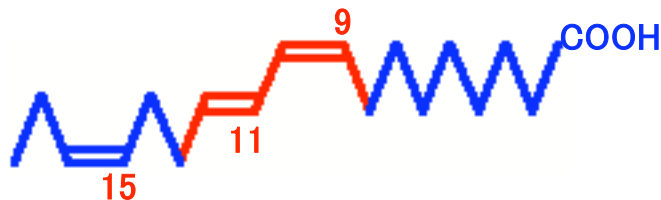
プロピレングリコール
KOH

減圧下
160°C
1hr

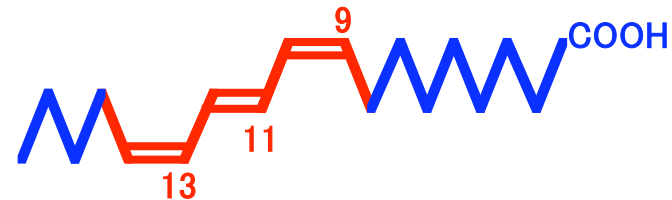
アルカリ異性化

共役リノレン酸 (CLN)

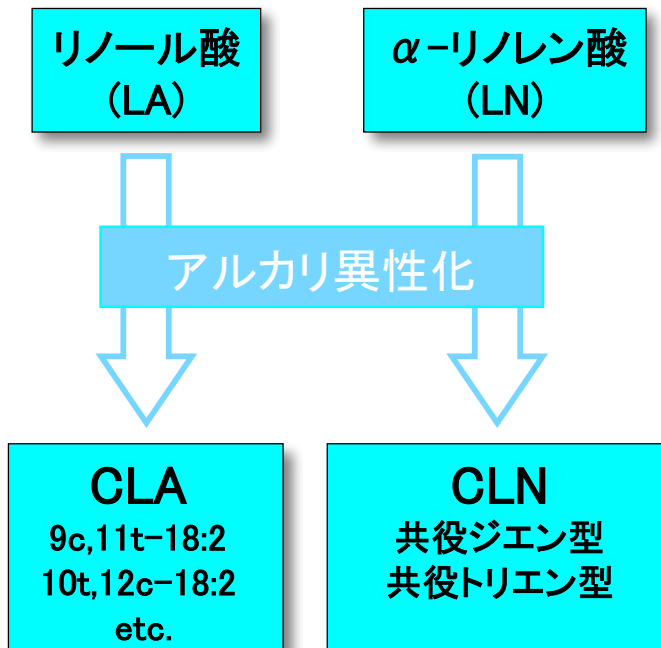
共役ジエン型
 $9c,11t,15c-18:3$



共役トリエン型
 $9c,11t,13c-18:3$ (プニカ酸)



CLNの効果(CLAとの比較)



試験油(遊離脂肪酸)の脂肪酸組成

脂肪酸	試験油			
	LA (紅花油)	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	70.9	21.9	1.5	0.5
18:3n-3	0.3	55.5	-	-
CLA	-	-	68.9	24.7
(9c,11t)	-	-	(31.8)	(8.0)
(10t,12c)	-	-	(32.7)	(15.1)
(others)	-	-	(4.6)	(1.6)
CLN	-	-	-	49.1
(共役ジエン型)	-	-	-	(31.9)
(共役トリエン型)	-	-	-	(17.2)

LA: linoleic acid, LN: α-linolenic acid

■ 食餌 (AIN-93G)

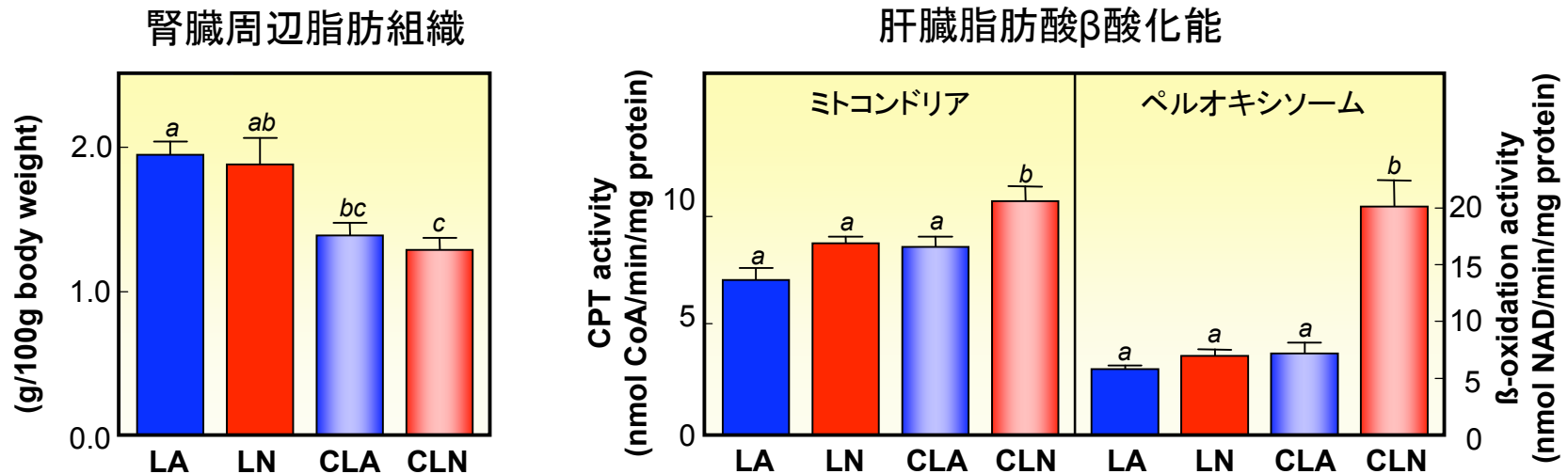
食餌脂肪 7%

{ 1% 試験油
6% 大豆油

■ SD系雄ラット

■ 4週間自由摂食

CLN摂取がラットの脂肪組織重量および 肝臓の脂肪酸 β 酸化能に及ぼす影響



LA: linoleic acid, LN: α -linolenic acid, CLN: conjugated linolenic acid.
CPT: carnitine palmitoyl transferase. Mean \pm SE of 8 rats.
ab: Different letters at $p < 0.05$.

CLNの効果(摂取量の影響)

試験油 (遊離脂肪酸) の脂肪酸組成

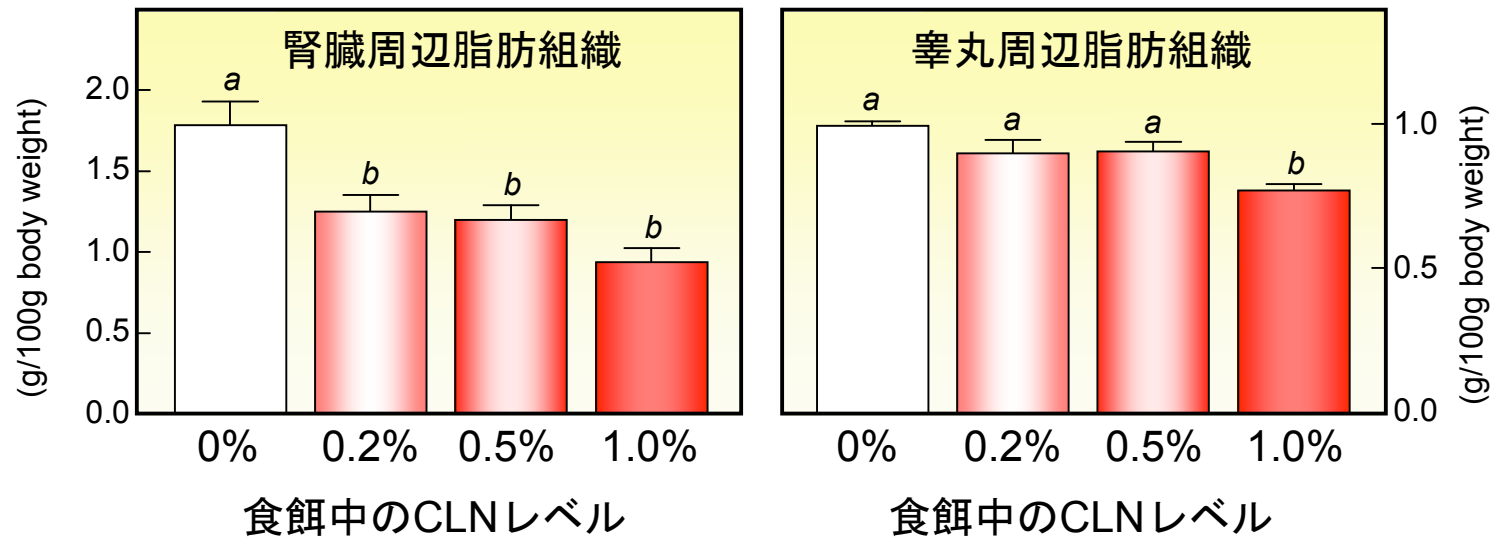
脂肪酸	LN	CLN
	(weight %)	
18:1n-9	5.4	5.6
18:2n-6	19.2	7.3
18:3n-3	75.3	0.5
CLA	-	18.4
(9c,11t)	-	(6.2)
(10t,12c)	-	(7.1)
(others)	-	(5.1)
CLN	-	67.6
(共役ジエン型)	-	(47.8)
(共役トリエン型)	-	(19.8)

- 食餌 (AIN-93G)
食餌脂肪 7%
 { 1% 試験油
 { 6% 大豆油
- SD系雄ラット
- 4週間自由摂食



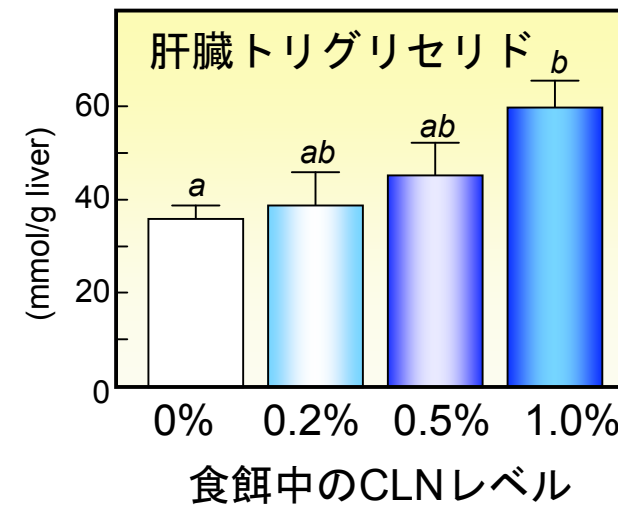
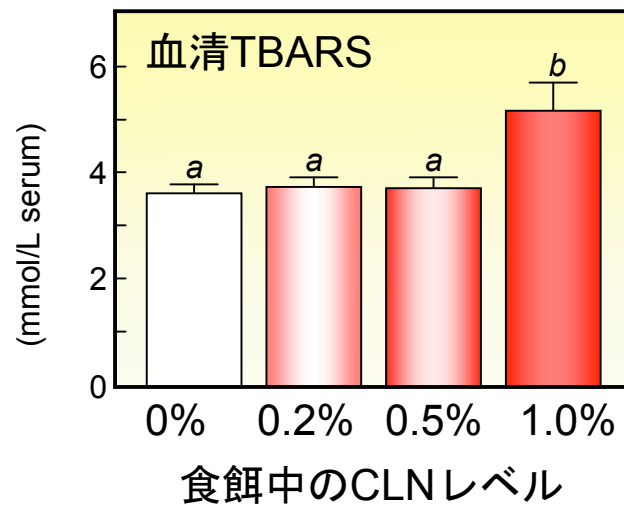
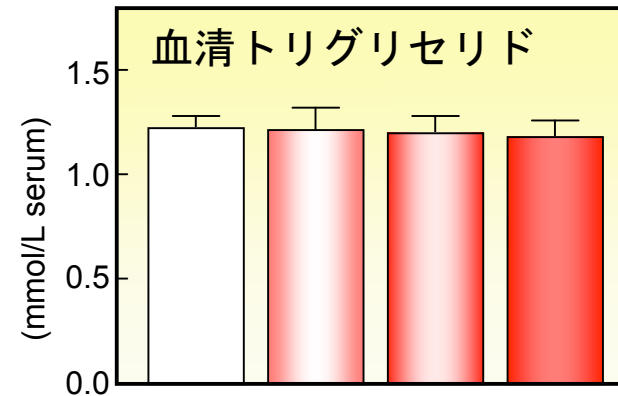
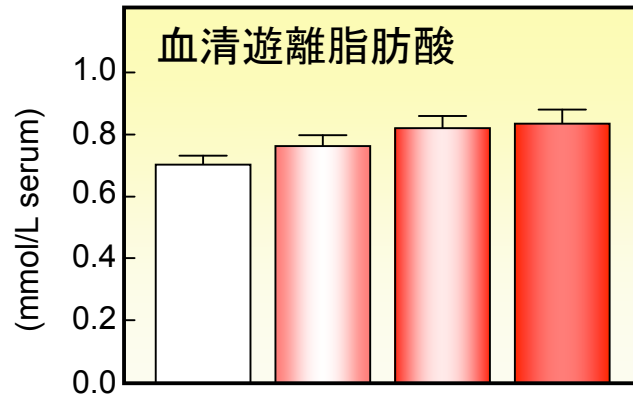
	実験群 (CLN level)			
	0%	0.2%	0.5%	1.0%
	g/100g diet			
CLN	0	0.2	0.5	1
LN	1	0.8	0.5	0

CLN摂取量の違いがラットの脂肪組織重量に及ぼす影響



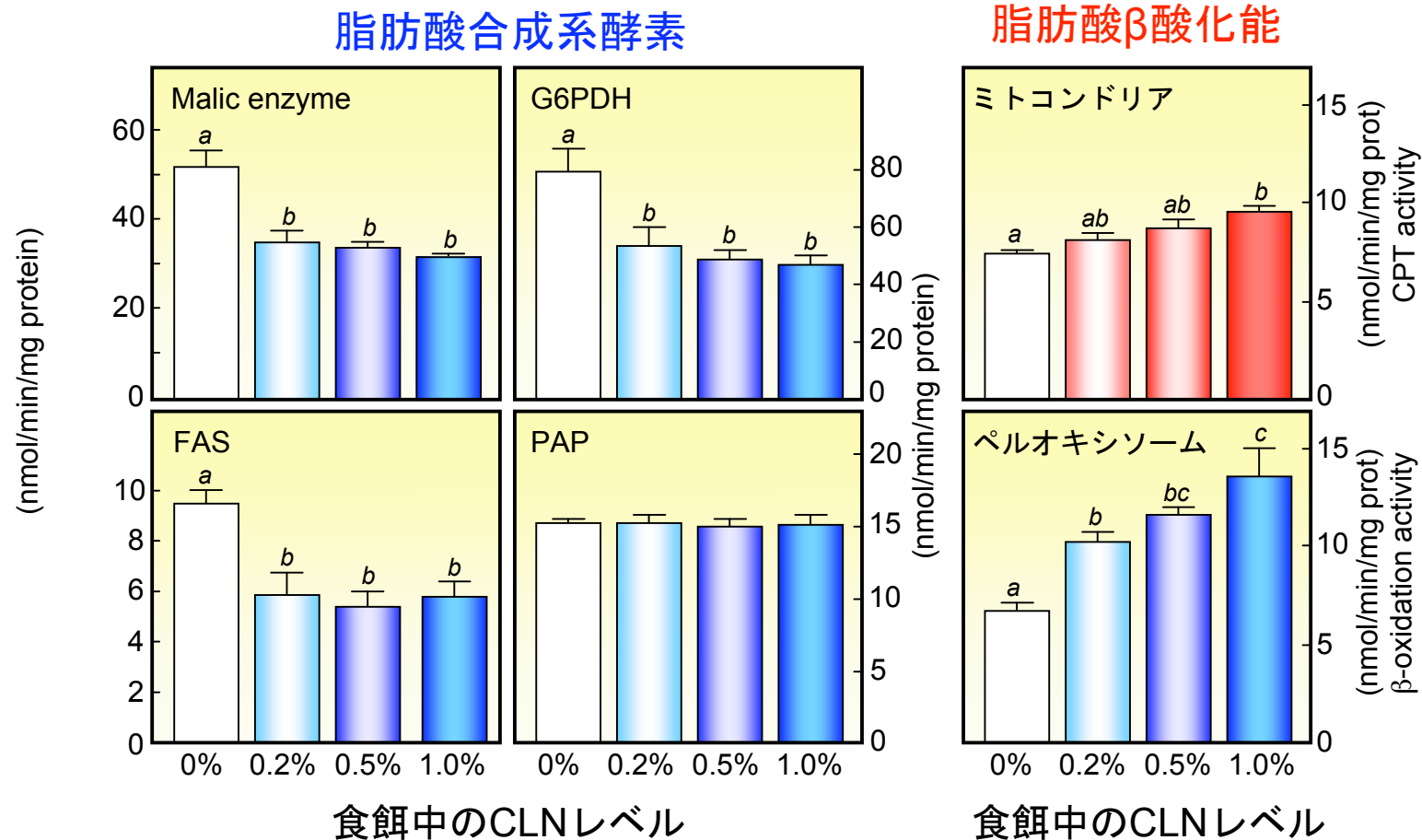
Mean \pm SE of 8 rats. ab: Different letters at $p < 0.05$.

CLN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 $p < 0.05$.

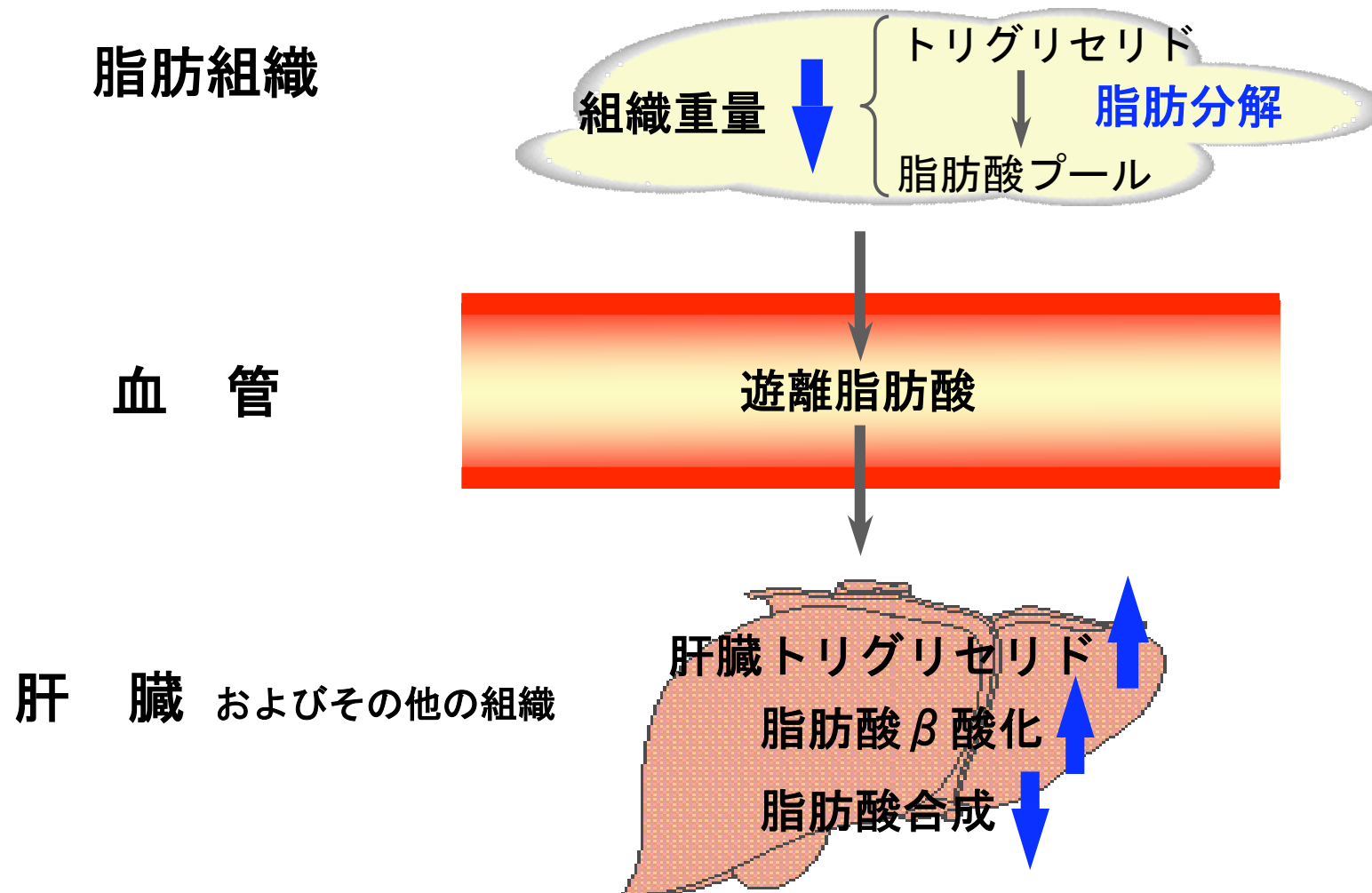
CLN摂取量の違いが肝臓の脂肪酸合成系およびβ酸化系酵素活性に及ぼす影響



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

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

CLNの脂肪組織重量低減作用



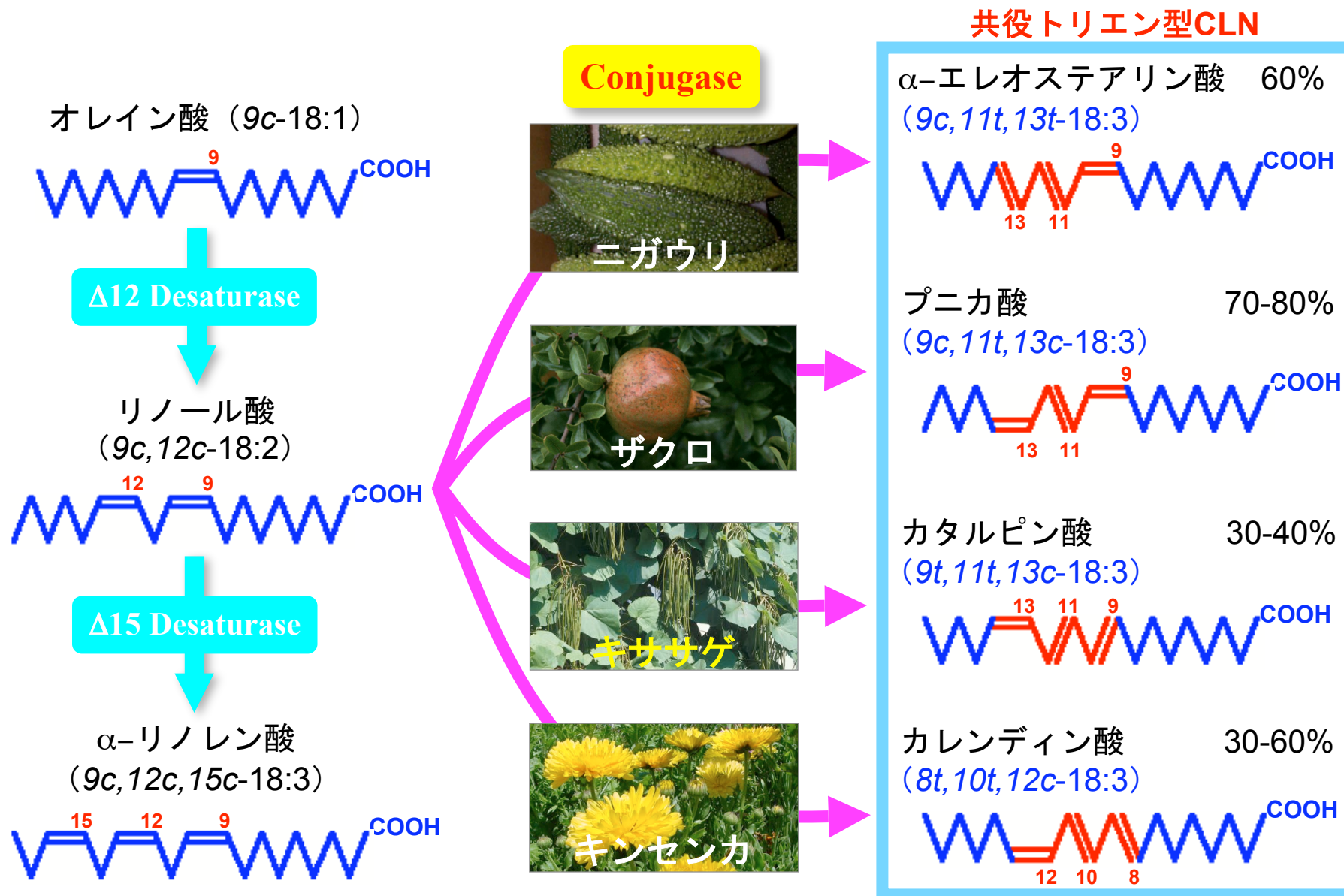
共役リノレン酸の体脂肪減少効果

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

■ α -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

植物種子におけるCLNの生合成



CLN含有植物種子油



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

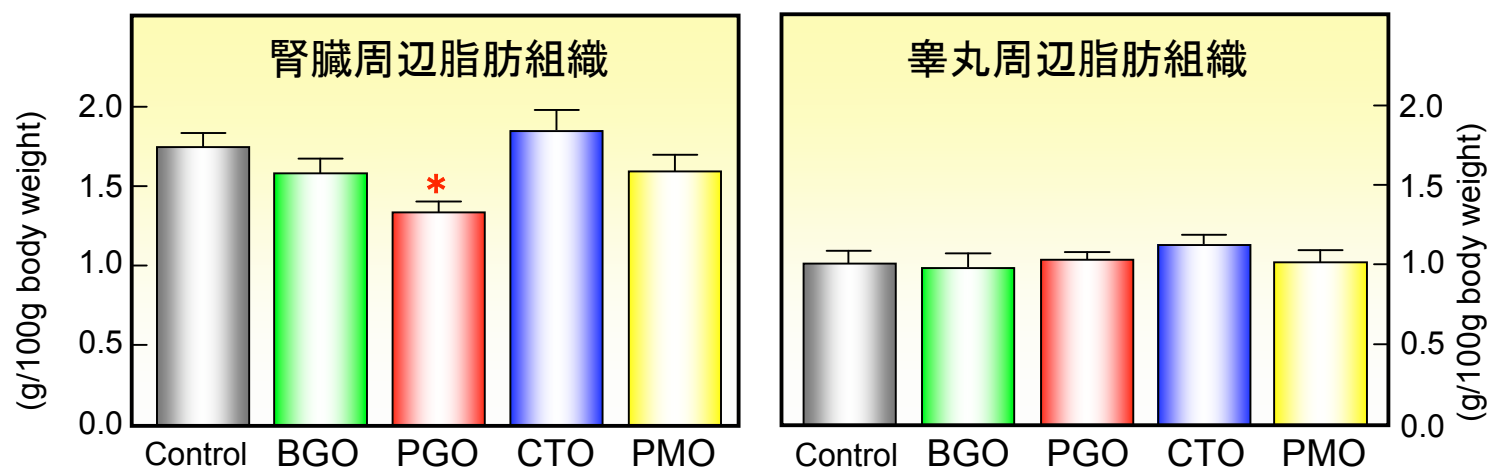
食餌脂肪の脂肪酸組成*

	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
CLN					
α-エレオステアリン酸 - (9c,11t,13t-18:3)	-	9.8	0.5	-	-
プニカ酸 (9c,11t,13c-18:3)	-	-	9.3	-	-
カタルピン酸 (9t,11t,13c-18:3)	-	-	-	10.0	-
カレンディン酸 (8t,10t,12c-18:3)	-	-	-	-	10.0

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

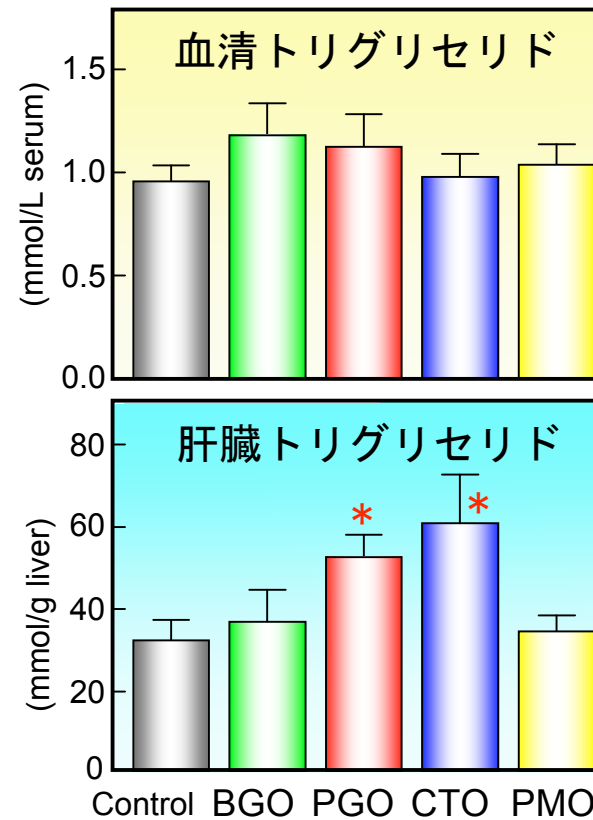
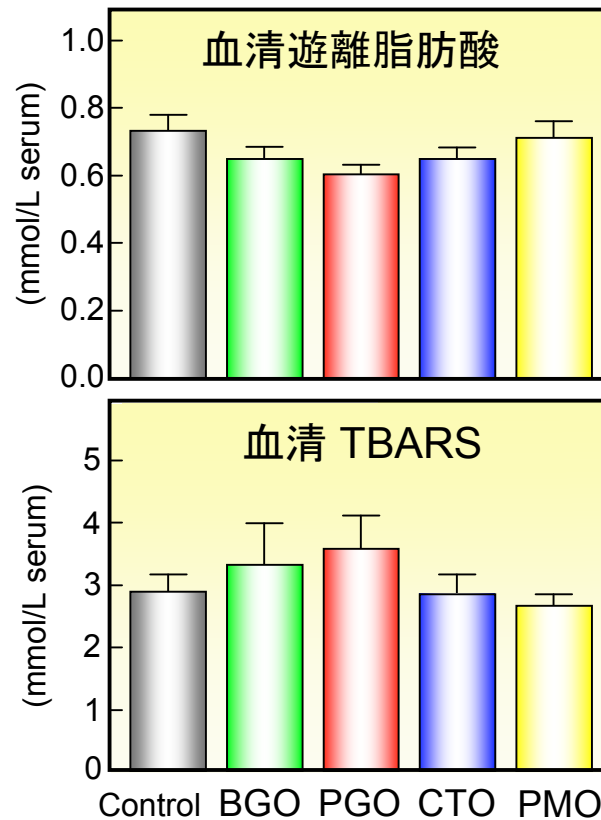


Control : 対照 (9c,12c,15c-18:3)
BGO : ニガウリ (9c,11t,13t-18:3)
PGO : ザクロ (9c,11t,13c-18:3)
CTO : キササゲ (9t,11t,13c-18:3)
PMO : キンセンカ (8t,10t,12c-18:3)

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

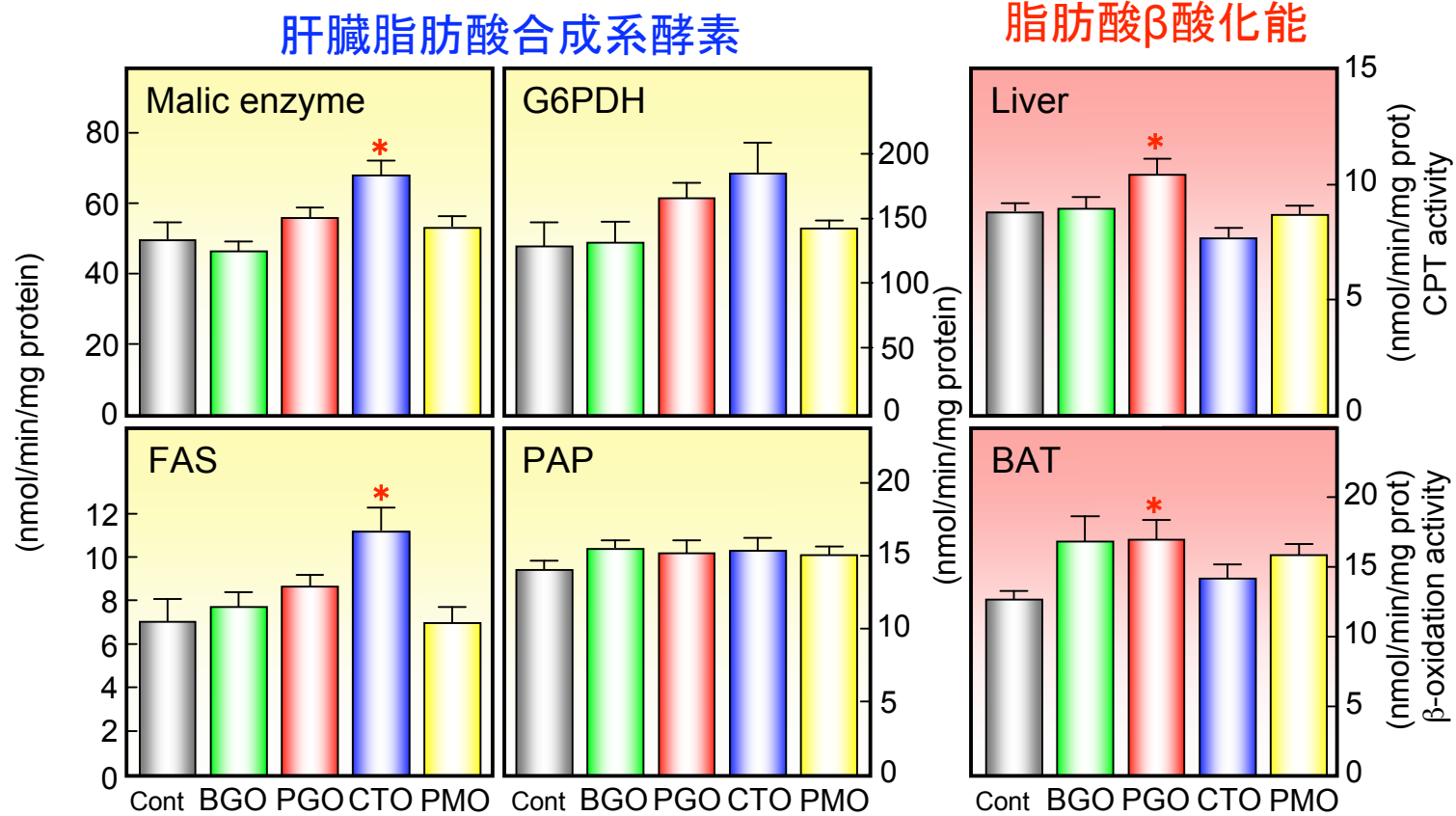


Control : 対照 (9c,12c,15c-18:3)
 BGO : ニガウリ (9c,11t,13t-18:3)
 PGO : ザクロ (9c,11t,13c-18:3)
 CTO : キササゲ (9t,11t,13c-18:3)
 PMO : キンセンカ (8t,10t,12c-18:3)

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.

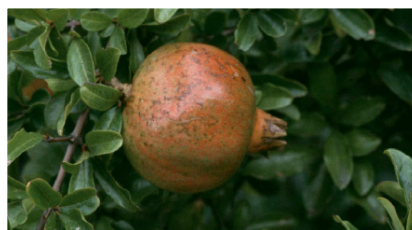
CLN含有種子油の効果（要約）



ニガウリ
(BGO)
 α -Eleostearic acid
(9*c*,11*t*,13*t*-18:3)

脂肪組織重量 ±

脂肪酸 β 酸化能 ±
脂肪酸合成能 ±



ザクロ
(PGO)
Punicic acid
(9*c*,11*t*,13*c*-18:3)

脂肪組織重量 ↓

脂肪酸 β 酸化能 ↑
脂肪酸合成能 ±



キササゲ
(CTO)
Catalpic acid
(9*t*,11*t*,13*c*-18:3)

脂肪組織重量 ±

脂肪酸 β 酸化能 ±
脂肪酸合成能 ↑

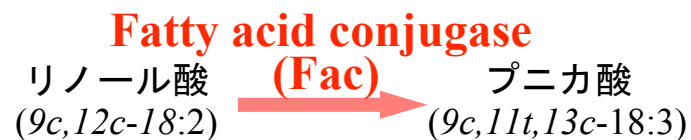
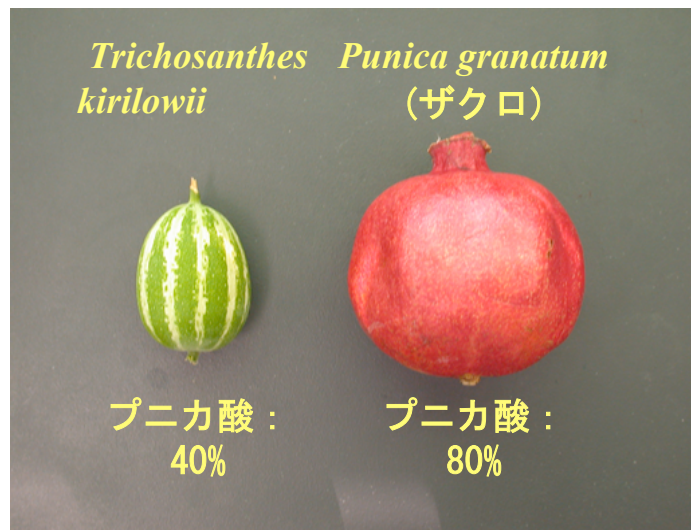


キンセンカ
(PMO)
Calendic acid
(8*t*,10*t*,12*c*-18:3)

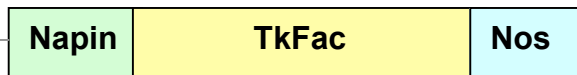
脂肪組織重量 ±

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-

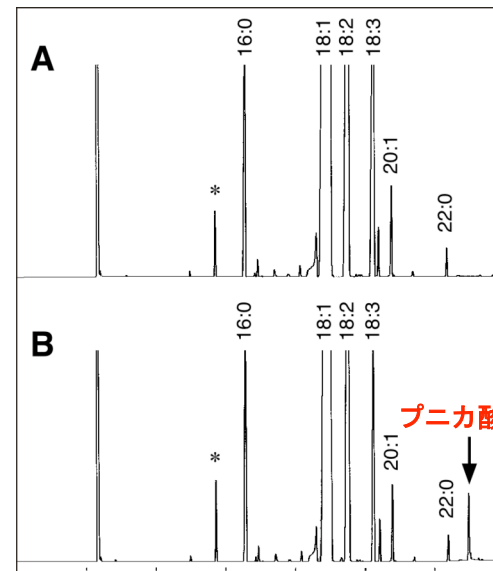


Plant expression vector "pKN-TkFac"



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

なたねから抽出した総脂質の脂肪酸分析



Wild type peseds

T2 rapeseeds transformed with TkFac

FAP of rapeseeds from untransformed plants and from transgenic plants expressing TkFac

	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	0.0
GMRO	5.3	1.7	66.5	16.3	4.0	2.5

RSO: wild type rapeseed oil, GMRO: gene modified rapeseed oil

マウスにおけるプニカ酸含有植物種子油摂取の効果

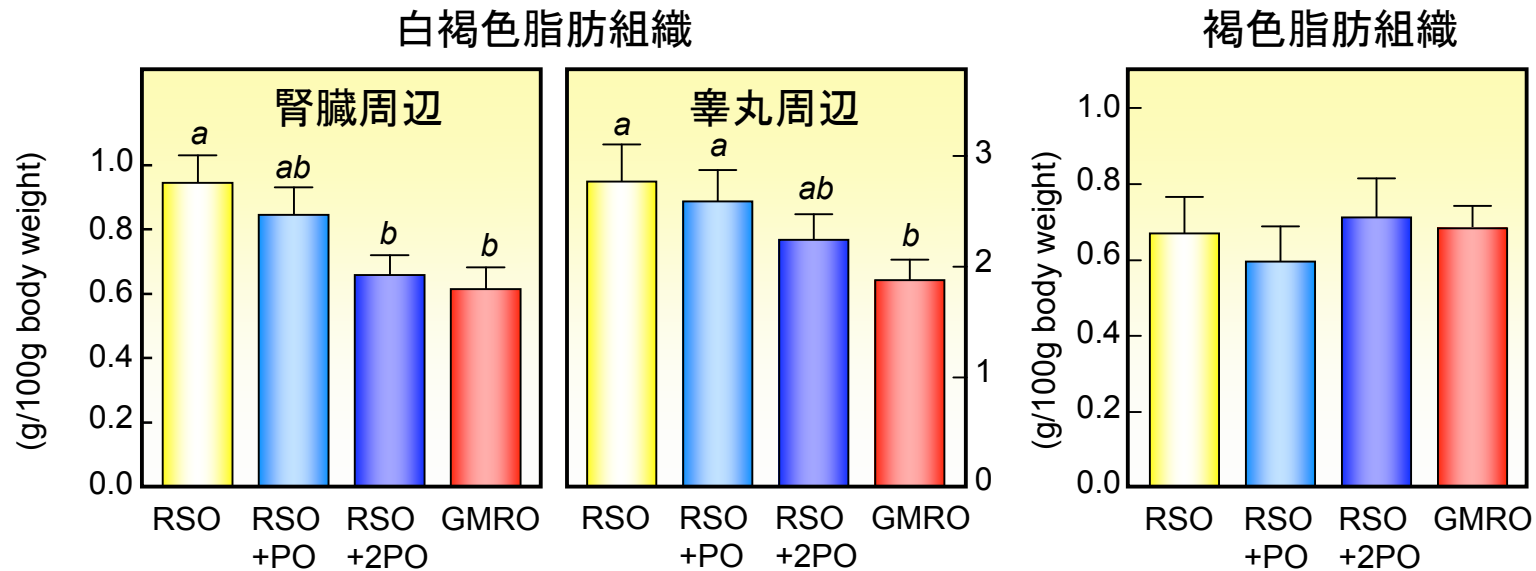
食餌脂肪の脂肪酸組成

Fatty acids	Groups			
	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
9c,11t,13c-18:3	0.0	2.5	5.0	2.5

RSO: wild type rapeseed oil, PO: pomegranate oil,
GMRO: gene modified rapeseed oil

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

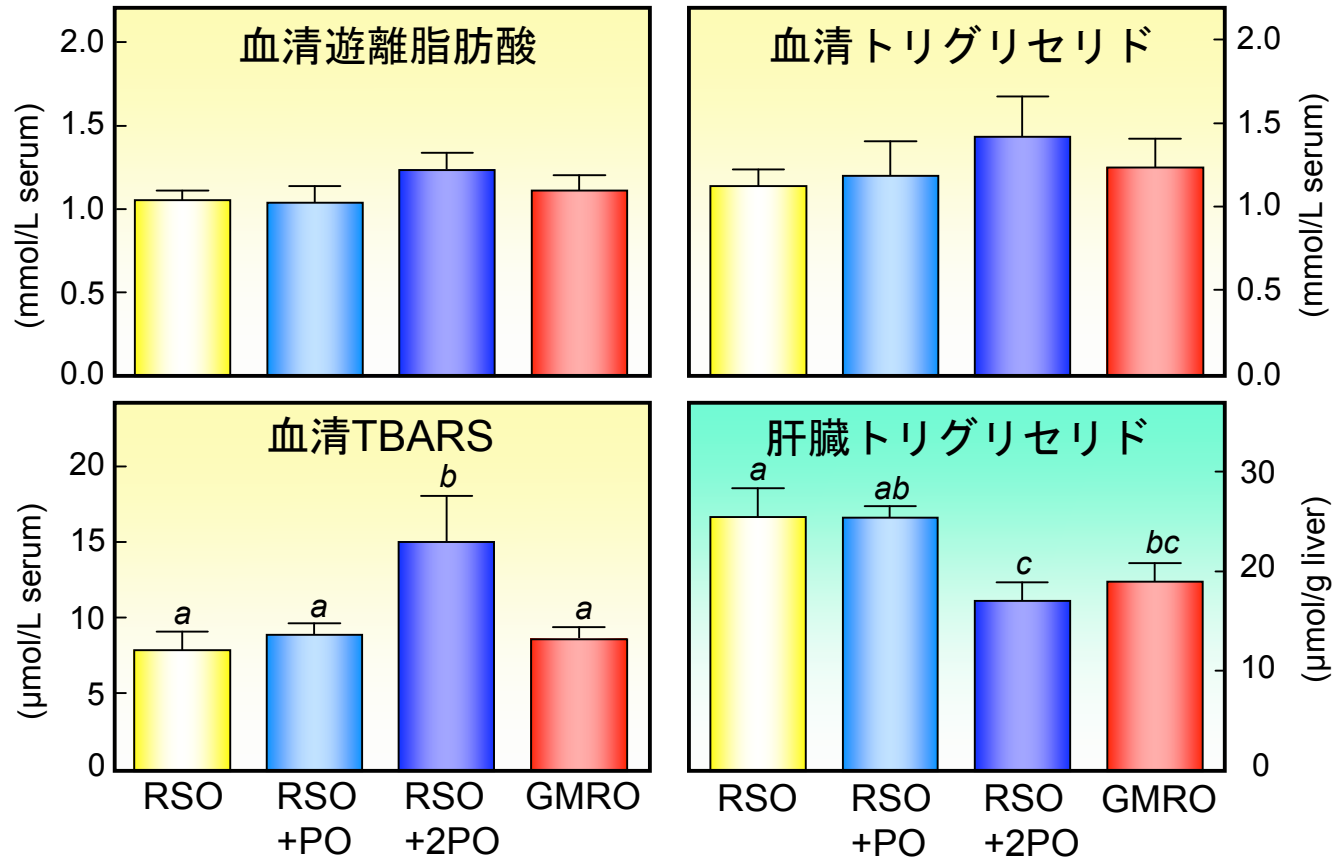
プニカ酸含有種子油の摂取がマウスの脂肪組織重量に及ぼす影響



RSO, wild type rapeseed oil; PO, pomegranate oil; GMRO, gene modified rapeseed oil

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.

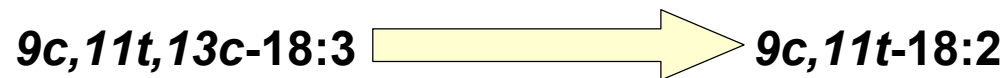
Mean \pm SE of 5 or 6 mice. *ab*: Different letters at $p < 0.05$.

肝臓リン脂質およびトリグリセリド画分の脂肪酸組成

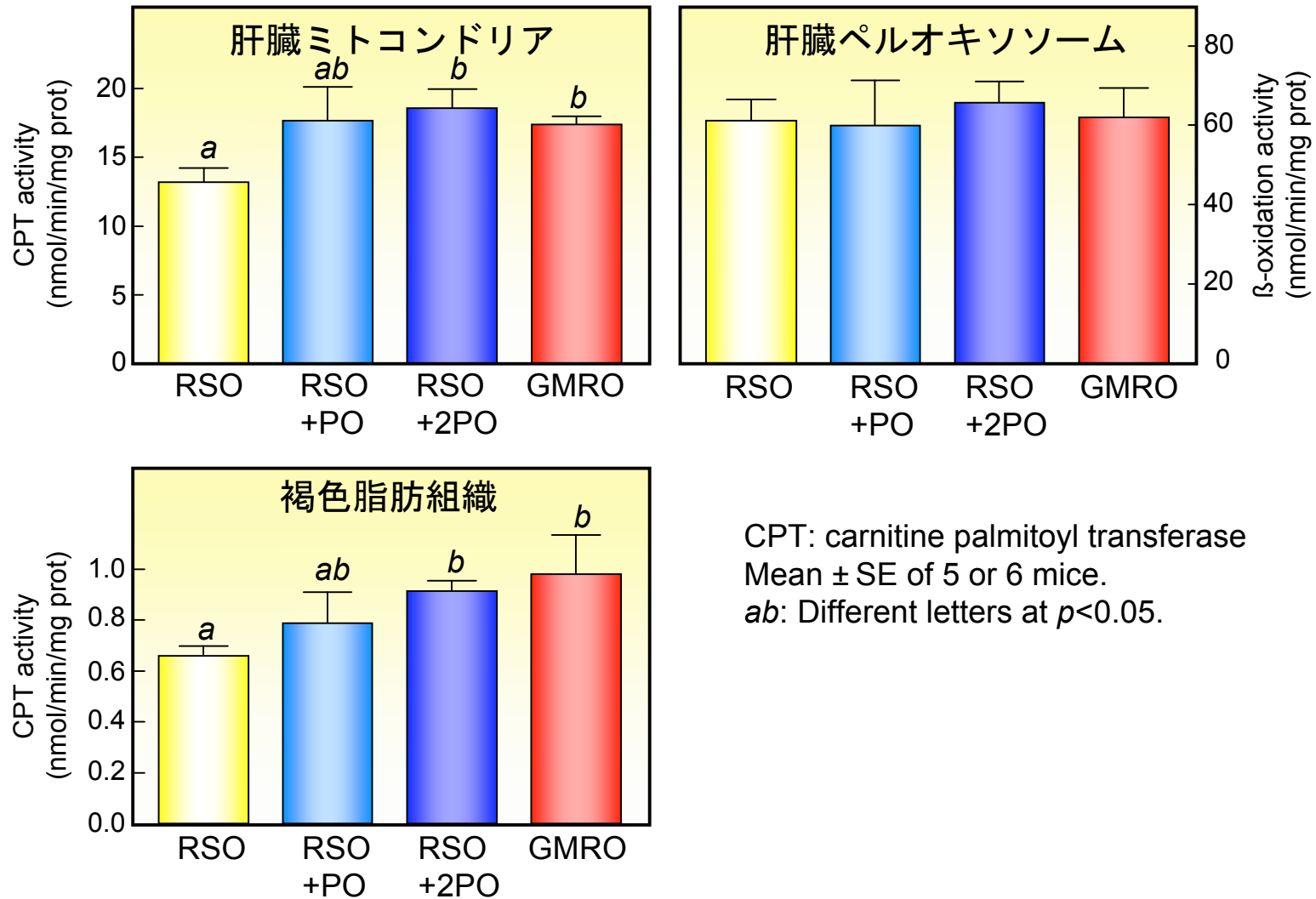
	Phospholipid				Triglyceride			
	RSO	RSO+PO	PSP+2PO	GMRO	RSO	RSO+PO	PSP+2PO	GMRO
16:0	34.1	30.8	31.1	31.1	25.0	26.3	24.8	28.3
16:1	0.3	0.3	0.4	0.3	1.9	1.7	1.9	1.9
18:0	17.6	17.7	15.5	15.4	1.7	2.0	1.5	1.7
18:1n-9	9.4 ^a	9.5 ^a	9.3 ^a	12.1 ^b	47.4	44.1	42.3	48.0
18:2n-6	12.9	13.3	13.2	11.3	14.2 ^a	12.4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

Mean of 5 or 6 mice. ^{ab}Different letters at $p < 0.05$.

$\Delta 13$ -Saturation



プニカ酸含有種子油の摂取がマウスの脂肪酸β酸化能に及ぼす影響



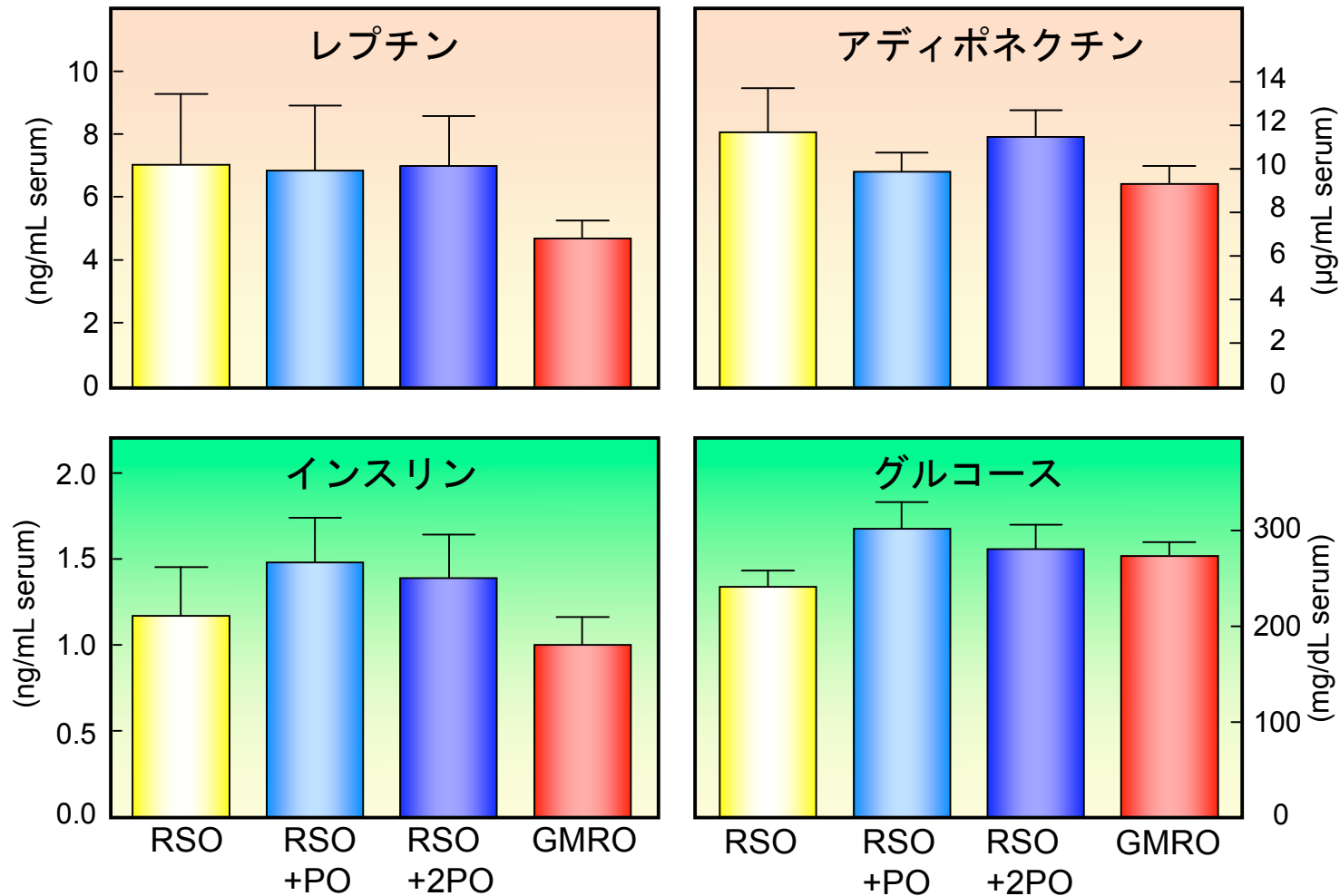
CPT: carnitine palmitoyl transferase
Mean \pm SE of 5 or 6 mice.
ab: Different letters at $p < 0.05$.

CLA摂取の悪影響について

-マウスの場合-

- 脂肪組織重量の激減
- 血清中のレプチンやアディポネクチン濃度の激減
- リポジストロフィー
- インスリン抵抗性

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 血清インスリンおよびグルコース濃度に及ぼす影響



Mean ± SE of 5 or 6 mice.

共役リノレン酸の効果

α-リノレン酸のアルカリ異性化物

- 脂肪組織重量を少なくともCLAと同等以上に低下
- 肝臓での脂肪酸β酸化能の亢進
- 摂取量依存的な効果

CLN含有種子油

- 効果はCLN異性体によって異なる
- 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GMROにも脂肪組織重量低下作用