母親が摂取したコーン油とシソ油が 仔ラットの血漿と脳の脂肪酸組成に及ぼす影響

小松崎典子・海老原亜耶・中嶋洋子

(聖徳大学)

Effect of corn oil and perilla oil intake by rats during pregnancy and lactation on fatty acids composition of plasma and brain of pups

Noriko Komatsuzaki, Aya Ebihara, Yoko Nakashima

Seitoku University, 550, Iwase, Matsudo-shi, Chiba, 271-8555

〒271-8555 千葉県松戸市岩瀬550

We investigated the effects of corn oil and perilla oil intake by rats during pregnancy and lactation on the fatty acids composition of plasma and brain of rat pups. Two groups of dams were fed either a corn oil diet (CD) or a perilla oil diet (PD) during their pregnancy and lactation. On days 8, 21 and 33 after birth, two pups each from the litters of all dams were killed and their blood and brain samples were collected. After weaning, the 46 and 60-d-old pups were dissected. On day 8 after birth, although the $n-3$ fatty acid in the plasma of the PD group was 3 times higher than that of the CD group, no significant difference in the brain was observed between the two groups. On day 1 after birth, no brain $n-3$ fatty acid composition in the pups from both groups was detected, but they increased with the pup's growth. The $n-6 / n-3$ in pup's brain of dams fed the CD and the PD was 1.88 and 1.74 on the day 8 after birth, and 1.26 and 0.93 on the day 60 after birth, respectively. Therefore, it was suggested that the fatty acid composition of the brain in pups remained constant while the dams were fed different oils during pregnancy and lactation.

1. 緒 言

ドコサヘキサエン酸 (DHA; 22:6 $n-3$) とアラキドン酸 (AA; 20:4 $n-6$) は、胎児期および授乳期の脳の発達に重要な役割を果たしている¹⁻⁴⁾。特に DHA は、脳神経のミエリン化に必要な不飽和脂肪酸 (PUFA) である^{5, 6)}。DHA は α -リノレン酸 (ALA; 18:3 $n-3$) やエイコサペンタエン酸 (EPA; 20:5 $n-3$) から、AA はリノール酸 (LA; 18:2 $n-6$) から炭素鎖の延長と不飽和化を受けて合成される。ALA と LA は必須脂肪酸 (EFA) であり、体内で合成されないため食事から摂取しなければならない。

LA が植物油に多く含まれているのに比べて、ALA の主な給源はシソ油、エゴマ油、アマニ油などに限られている⁷⁻¹⁰⁾。シソ油はシソ [シソ科: *Perilla frutes* (L.) Britton] からとれる種子油で ALA が50%と豊富に含ま

れている。シソ油は、体内の抗酸化作用や LA の取りすぎによるアレルギー症状を抑制するが⁷⁾、赤血球膜の EPA やドコサペンタエン酸 (22:5 $n-3$) 濃度の増強⁹⁾、脳機能活性を促進する魚油代替効果についても注目されている^{8, 11)}。

ラットにおいて、妊娠・授乳期に $n-3$ 系脂肪酸量の低い食餌を与えると乳汁中の DHA 含量が低下すること¹²⁾や、胎児期から EFA 欠乏食で育てられたマウスの脳のミエリンが未発達であることが報告されている¹³⁾。一方、金沢らは母ラットに DHA 添加飼料を与えることにより、乳汁の DHA 含量と仔ラット脳の DHA 濃度が増加することを報告している¹⁴⁾。乳児期の栄養は乳汁を介して母親に依存しており、成長と発達に影響を及ぼすことが推測される。

われわれは前報において、母親が摂取したシソ油の ALA が母体内で EPA と DHA に合成され母乳に移行し、

授乳期仔ラットの血漿脂質濃度に影響を及ぼすことを報告した¹⁵⁾。本研究は、ALA 含量の低いコーン油と高いシソ油食で妊娠・授乳期ラットを飼育し、仔ラットの血漿と脳の脂肪酸組成を測定し、仔ラットの成長と脳の発達にどのような影響を及ぼすかを調べた。

2. 方 法

(1) 飼料組成

実験に用いたコーン油食 (CD) とシソ油食 (PD) は、AIN-93G 飼料の組成に準じて調製した¹⁶⁾。CD にはコーン油を、PD にはシソ油を 7 g/100g 添加し、さらに CD の *n*-3 系脂肪酸不足を考慮してそれぞれの飼料に 3 g/100g の大豆油を加え、増加分はコーンスターチを減らして調製した (Table 1)。CD と PD の脂肪酸組成は Table 2 に示した。CD と PD の *n*-6/*n*-3 は、それぞれ 22.6 と 0.51 であった (Table 2)。PD は、シソ油の酸化を防ぐために毎日調製した。

カゼイン、 α -コーンスターチ、セルロース、AIN-93G ミネラル混合、AIN-93 ビタミン混合はオリエンタル酵母工業 (株) 製を、L-シスチン、大豆油、重石硫酸コリン、*t*-ブチルヒドロキノン は和光純薬工業 (株) 製を用いた。シソ油は紅花食品 (株) からシソ油精製油を入手した。

(2) 実験動物および飼育方法

実験には、Sprague Dawley 系の妊娠 3 日目のラットを 12 匹、日本チャールス・リバー (株) より購入して用いた。ラットは、室温 23 ± 2 °C、湿度 50%、明暗サイクル 12 時間 (明期 7:00-19:00) の環境下で飼育した。紙チップ (SSP 社 ALPHA-dri) を敷いたプラスチック製の飼

育箱にラットを入れ、個別飼育とした。飼育期間中、飼料と水は自由に摂取させた。動物の世話 は毎日行い、飼料摂取量と体重を測定した。

動物実験は、聖徳大学動物実験指針に基づき、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準 (平成 18 年、環境省告示第 88 号)」を遵守して行った。

(3) 実験計画

購入後、妊娠ラットは平均体重および体重のばらつきができるだけ同じになるように 1 群 6 匹ずつの 2 群に分け CD 群と PD 群とした。妊娠・授乳期間中、CD 群は Table 1 に示した CD で、PD 群は PD で飼育した。仔ラットは出生後 24 時間以内に、1 匹の母親に授乳させる匹数が 10 匹になるように調整し、生後 33 日目まで母親とともに飼育した。生後 33、47、60 日目の仔ラットは個別に飼育した。仔ラットは、生後 8、21、33 日目に 1 匹の母親から 2 匹ずつ取り出して解剖し、母親も 33 日目に解剖した。解剖は午前 9 時から 11 時の間に行った。生後 8 日目と 21 日目の仔ラットは断頭し、血液を採取し、1,500 *xg* で 30 分間遠心分離し血漿を得た。生後 33、46、60 日目の仔ラットと母ラットは 16 時間絶食後、エーテル麻酔下に心臓より採血した。血液はヘパリン入り真空採血管 (ニプロ (株)) に入れ、1,500 *xg* で 30 分間遠心分離し血漿を得た。実験動物から肝臓と胃を採取し重量を測定後、胃から内容物を取り出し、血漿とともに測定までフリーザー内 (-80 °C) に冷凍保存した。

(4) 分析方法

飼料、胃内容物、血漿、脳の総脂質は、Folch *et al.*¹⁷⁾ の方法に準じてクロロホルム / メタノール溶液 (2:1, v/v) で抽出した。脳の総脂質量は、得られた総脂質抽出液の一部を用い、重量法により測定した。

飼料、胃内容物、血漿および脳の脂肪酸組成は、

Table 1 Composition of the experimental diets.¹⁾

Ingredient	(g/100g)
Casein	20.0
L-Cystine	0.3
Cornstarch	49.95
Sucrose	10.0
Soybean oil	3.0
Oil ²⁾	7.0
Cellulose	5.0
Mineral mixture ³⁾	3.5
Vitamin mixture ³⁾	1.0
Choline bitartrate	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014
Energy (kcal/g)	3.9
Protein energy ratio (%)	22.9
Fat energy ratio (%)	23.1
Carbohydrate energy ratio (%)	54.0

¹⁾ Composition for all ingredients is given in grams per 100g of diet.

²⁾ Oil; corn oil (corn oil diet), perilla oil (Perilla oil diet).

³⁾ Mineral mixture and vitamin mixtures were based on the AIN-93G formulation.¹⁸⁾

Table 2 Fatty acid composition of corn oil and perilla oil diets.

Fatty acid	CD	PD
Saturated	%	%
14:0	0.1	0.1
16:0	11.3	7.9
18:0	2.1	1.1
20:0	0.4	0.1
Total	13.9	9.2
Monounsaturated		
18:1	29.5	18.7
Total	29.5	18.7
Polyunsaturated		
18:2 (<i>n</i> -6)	54.2	24.5
18:3 (<i>n</i> -3)	2.4	47.6
<i>n</i> -6	53.2	24.5
<i>n</i> -3	2.4	47.6
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	22.6	0.51

CD; Corn oil diet, PD; Perilla oil diet.

Morrison *et al.*¹⁸⁾ の方法に基づいて、脂肪酸をメチル化した後測定した。総脂質抽出液 1 mL に 0.5 mol/L 水酸化ナトリウム・メタノール溶液 1.5 mL を加えて沸騰湯浴中で 9 分加熱した。三ふつ化ホウ素酸ナトリウム錯体メタノール溶液 2 mL を加え、沸騰湯浴中で 7 分加熱した。冷却後、ヘキサン 3 mL を加えて激しく振とうし、さらに飽和食塩水 5 mL を加え軽く振とうした後、遠心分離 (1,500 *×g* 10 分間) し、ヘキサン層を回収した。回収したヘキサンは窒素ガス気流で留去した後、少量のヘキサンに溶解し試験溶液とした。脂肪酸は、ガスクロマトグラフィーにより分析した。ガスクロマトグラフィーは、水素炎イオン化検出器 (flame ionization detector) 装備の日立 G-3500 ガスクロマトグラフで測定した。温度は、試料注入口 140℃、検出器 200℃ とし、ガラスキャピラリーカラム (TC-FFAP, 15 m × 0.53 mm ID, 1.0 μm; GL Sciences Inc.) の温度は、140℃ で 5 分保持した後、3℃/min で 200℃ まで昇温して、キャリアガス (ヘリウム) 流量は 1 mL/min とした。

(5) 統計処理

データは平均 ± 標準偏差 (mean ± SD) で表した。2 群間の比較には Student's *t*-test を用いた (Table 3, 4)。Table 4 と 5 の群と経時変化の比較は二元配置分散分析 (ANOVA) により解析した。群間に交互作用が認められた場合、多重比較検定として Scheffe 法を用いた。*p* < 0.05 で有意差ありと判定した。ソフトはエクセル統計 2004 ((株) 社会情報サービス) を用いた。

3. 結 果

(1) 母ラットの飼料摂取量と体重、血漿および脳の脂肪酸組成

妊娠・授乳期間中に母親ラットと仔ラットが摂取した総飼料摂取量は、CD 群が 2,324 ± 105 g、PD 群が 2,229 ± 95 g であり、2 群間で有意な差はみられなかった。また、母親の実験終了時の体重は、CD 群が 315 ± 12g、PD 群が 282 ± 39g であり、2 群間で有意差はみられなかった。出生後 24 時間以内に測定した仔ラットの体重には両群間で有意な差はみられなかった。授乳期間を通して仔ラットは順調に成長し、60 日齢の体重は CD 群が 330.6 ± 75.9g、PD 群が 341.3 ± 78.0g で、出生後の体重に両群間で有意な差はみられなかった。

母親ラットの血漿と脳の脂肪酸組成は Table 3 に示した。血漿中の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸は、CD 群と PD 群間で有意な差はみられなかった。*n*-6 系脂肪酸は CD 群が PD 群に比べて有意に高く (*p* < 0.05)、*n*-3 系脂肪酸は PD 群が CD 群に比べて高かった (*p* < 0.05) (Table 3)。CD 群の *n*-6/*n*-3 は PD 群の約 8.6 倍高かった。脳の *n*-3 系脂肪酸は PD 群が CD 群に比べて高かった (*p* < 0.05) が、*n*-3 系脂肪酸以外の脂肪酸組成および脳重量 (g/100gBW) と脳の総脂質量 (mg/g) には

Table 3 Fatty acid composition in plasma and brain of dams fed corn oil and perilla oil diets.

Group	CD	PD
Plasma fatty acids (%)		
Saturated	32.6 ± 3.51	30.5 ± 2.08
Monounsaturated	18.8 ± 4.13	16.0 ± 3.36
Polyunsaturated		
<i>n</i> -6	43.0 ± 9.48	32.9 ± 2.99*
<i>n</i> -3	3.11 ± 0.82	20.4 ± 2.81*
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	13.8	1.61
Brain fatty acid (%)		
Saturated	45.5 ± 2.89	43.5 ± 3.91
Monounsaturated	23.1 ± 2.87	25.7 ± 1.65
Polyunsaturated		
<i>n</i> -6	17.2 ± 1.35	15.6 ± 4.72
<i>n</i> -3	11.1 ± 1.14	14.7 ± 1.16*
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	1.55	1.06
Brain weight (g/100gBW)	0.65 ± 0.04	0.72 ± 0.18
Brain total fat (mg/g)	65.7 ± 7.98	63.2 ± 8.75

CD; Corn oil diet, PD; Perilla oil diet.

Values represent means ± SD, *n* = 6.

Student's *t*-test: * significantly different at *p* < 0.05.

両群間で有意な差はみられなかった。

(2) 仔ラットの胃内容物および血漿の脂肪酸組成

8 日齢仔ラットの胃内容物の脂肪酸組成は、両群ともに飽和脂肪酸が最も高く約 80 mg/g ずつであった (Table 4)。*n*-6 系脂肪酸の LA とドコサテトラエン酸 (22:4 *n*-6) は CD 群が PD 群よりも高く (*p* < 0.01)、*n*-6 系脂肪酸量も CD 群が高かった。*n*-3 系脂肪酸の ALA, EPA, ドコサペンタエン酸 (DPA; 22:5) PD 群が CD 群よりも高く (*p* < 0.01)、*n*-3 系脂肪酸量も PD 群が高かった。AA と DHA は 2 群間で有意差がみられなかった。*n*-6/*n*-3 は CD 群が 16.4、PD 群が 0.98 となり、CD 群が高かった。

8, 21, 60 日齢の仔ラットの血漿脂肪酸組成を Table 4 に示した。飽和脂肪酸は 8, 21, 60 日齢ともに、両群間で有意な差はみられなかった。一価不飽和脂肪酸は加齢にともなって増加した (*p* < 0.05) が、両群間で有意な差はみられなかった。*n*-6 系脂肪酸は、2 群ともに LA と AA が多く含まれていた。LA は両群ともに 21 日齢が最も高く、60 日齢で低下した (*p* < 0.05)。AA は 8 日齢の CD 群が最も高く、加齢とともに低下した (*p* < 0.05) が、PD 群の AA は変化がみられなかった。*n*-3 系脂肪酸は、PD 群には ALA と EPA が検出されたが、CD 群にはほとんど含まれていなかった。両群ともに DHA が含まれていたが、成長にともない低下した。PD 群の ALA は 21 日齢が高かったが、EPA は 8 日齢が高かった (*p* < 0.05)。*n*-6/*n*-3 は 8, 21, 60 日齢のいずれにおいても、CD 群が PD 群に比べて高かった。

Table 4 Fatty acid composition in plasma of pups nursed by dams fed corn oil and perilla oil diets.

Days after birth	Stomach content		Plasma					
	8		8		21		60	
Group	CD	PD	CD	PD	CD	PD	CD	PD
Fatty acids (w%)	mg/g	mg/g	wt %	wt %	wt %	wt %	wt %	wt %
Saturated	79.6 ± 13.8	86.3 ± 16.9	38.7 ± 3.47	35.5 ± 1.87	32.3 ± 2.72	29.4 ± 2.24	40.8 ± 13.5	34.7 ± 11.1
Monounsaturated	27.5 ± 5.15	25.3 ± 5.06	11.0 ± 1.10 ^c	9.48 ± 1.40 ^c	15.5 ± 1.59 ^{ab}	13.6 ± 2.41 ^b	18.6 ± 6.21 ^a	15.8 ± 4.30 ^a
Polyunsaturated								
18:2 (<i>n</i> -6)	32.6 ± 5.76	21.5 ± 4.25 ^{**}	22.4 ± 1.48 ^{bc}	21.9 ± 1.53 ^c	29.8 ± 1.07 ^a	26.3 ± 1.00 ^b	20.0 ± 7.92 ^{bc}	19.6 ± 7.40 ^c
20:3 (<i>n</i> -6)	0.97 ± 0.27	0.94 ± 0.51	n.d. ^b	0.25 ± 0.18 ^a	0.39 ± 0.14 ^a	0.34 ± 0.11 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b
20:4 (<i>n</i> -6)	1.81 ± 0.47	2.15 ± 0.46	21.4 ± 2.03 ^a	9.95 ± 1.96 ^c	16.6 ± 1.73 ^b	7.02 ± 1.88 ^c	16.1 ± 1.44 ^b	8.14 ± 3.89 ^c
22:2 (<i>n</i> -6)	n.d.	n.d.	n.d. ^c	n.d. ^c	1.07 ± 0.13 ^a	0.66 ± 0.19 ^b	n.d. ^c	n.d. ^c
22:4 (<i>n</i> -6)	0.09 ± 0.01	n.d. ^{**}	1.18 ± 0.67 ^a	1.14 ± 0.55 ^a	0.68 ± 0.18 ^b	n.d. ^c	1.10 ± 0.48 ^a	1.07 ± 0.57 ^a
22:5 (<i>n</i> -6)	n.d.	0.49 ± 0.05 ^{**}	n.d. ^b	2.63 ± 0.21 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b
18:3 (<i>n</i> -3)	1.15 ± 0.33	23.0 ± 5.40 ^{**}	0.09 ± 0.01 ^c	7.66 ± 1.42 ^a	n.d. ^d	11.2 ± 1.36 ^a	n.d. ^d	8.74 ± 4.80 ^b
20:5 (<i>n</i> -3)	0.13 ± 0.06	1.55 ± 0.51 ^{**}	0.05 ± 0.02 ^c	7.43 ± 1.23 ^a	0.15 ± 0.07 ^d	5.56 ± 1.38 ^b	1.06 ± 0.36 ^c	5.56 ± 2.81 ^b
22:5 (<i>n</i> -3)	0.15 ± 0.04	1.19 ± 0.34 ^{**}	n.d. ^c	n.d. ^c	0.39 ± 0.12 ^b	1.86 ± 0.44 ^a	n.d. ^c	n.d. ^c
22:6 (<i>n</i> -3)	0.39 ± 0.03	0.48 ± 0.18	5.16 ± 2.01 ^a	4.03 ± 0.81 ^a	2.01 ± 0.47 ^{bc}	3.76 ± 1.04 ^a	1.54 ± 0.94 ^c	2.33 ± 0.83 ^{bc}
<i>n</i> -6	36.3 ± 6.61	25.6 ± 4.69 ^{**}	45.0 ± 3.00 ^a	35.9 ± 3.13 ^b	48.4 ± 2.55 ^a	33.2 ± 2.43 ^b	37.2 ± 8.81 ^a	32.3 ± 4.44 ^b
<i>n</i> -3	2.22 ± 0.66	26.2 ± 6.27 ^{**}	5.30 ± 1.14 ^c	19.1 ± 1.85 ^b	2.42 ± 0.61 ^c	21.3 ± 2.45 ^a	2.60 ± 0.64 ^c	16.6 ± 4.12 ^b
<i>n</i> -6 / <i>n</i> -3	16.4	0.98	8.49	1.88	20.0	1.56	14.3	1.95

CD; Corn oil diet, PD; Perilla oil diet. Values represent means ± SD. *n*=12. Student's *t*-test: ** significantly different at *p* < 0.01.Two-way ANOVA: within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at *p* < 0.05.

Table 5 Fatty acid composition in brain of pups nursed by dams fed corn oil and perilla oil diets.

Days after birth	1 *		8		21		60	
	CD	PD	CD	PD	CD	PD	CD	PD
Brain (g/100g BW)	4.26 ± 0.83 ^a	4.75 ± 0.54 ^a	3.84 ± 0.27 ^b	3.88 ± 0.27 ^b	2.10 ± 0.20 ^c	2.21 ± 0.14 ^c	0.62 ± 0.12 ^d	0.59 ± 0.13 ^d
Total fat (mg/g brain)	20.3 ± 2.06 ^d	16.9 ± 3.46 ^d	27.8 ± 8.43 ^c	20.1 ± 4.69 ^c	59.3 ± 9.17 ^b	56.7 ± 7.00 ^b	72.8 ± 10.9 ^a	68.5 ± 7.70 ^a
Fatty acids (w%)								
Saturated	91.4 ± 2.34 ^a	92.7 ± 2.05 ^a	63.3 ± 9.98 ^b	57.0 ± 7.80 ^b	45.1 ± 3.28 ^c	43.7 ± 3.16 ^c	39.6 ± 5.06 ^c	35.8 ± 2.79 ^c
Monounsaturated	2.95 ± 0.30 ^d	3.28 ± 0.60 ^d	13.9 ± 1.19 ^c	15.0 ± 2.68 ^c	18.5 ± 1.11 ^b	18.7 ± 1.59 ^b	30.1 ± 2.61 ^a	35.9 ± 4.70 ^a
Polyunsaturated								
18:2 (<i>n</i> -6)	n.d. ^c	n.d. ^c	1.02 ± 0.58 ^{ab}	1.62 ± 0.39 ^a	0.75 ± 0.24 ^b	1.21 ± 0.23 ^a	0.39 ± 0.27 ^b	n.d. ^c
20:3 (<i>n</i> -6)	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	0.55 ± 0.19 ^a	0.79 ± 0.15 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b
20:4 (<i>n</i> -6)	n.d. ^b	n.d. ^b	9.59 ± 2.30 ^a	9.53 ± 2.17 ^a	10.9 ± 0.62 ^a	9.98 ± 0.94 ^a	12.7 ± 1.20 ^a	12.9 ± 1.58 ^a
22:2 (<i>n</i> -6)	1.53 ± 0.45 ^a	1.43 ± 0.33 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b
22:3 (<i>n</i> -6)	1.79 ± 0.67 ^b	1.79 ± 0.65 ^b	2.19 ± 1.44 ^b	3.67 ± 2.10 ^b	10.2 ± 2.44 ^a	9.89 ± 1.81 ^a	2.18 ± 0.59 ^c	1.25 ± 0.41 ^c
22:4 (<i>n</i> -6)	n.d. ^c	n.d. ^c	1.92 ± 0.90 ^{ab}	2.34 ± 1.88 ^a	1.81 ± 0.55 ^{ab}	0.95 ± 0.15 ^b	n.d. ^c	n.d. ^c
22:5 (<i>n</i> -6)	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	1.49 ± 0.31 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b
20:5 (<i>n</i> -3)	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	n.d. ^b	0.12 ± 0.01 ^a	n.d. ^b	n.d. ^b
22:6 (<i>n</i> -3)	n.d. ^c	n.d. ^c	7.55 ± 2.72 ^b	9.48 ± 2.41 ^b	12.1 ± 0.86 ^a	14.2 ± 0.85 ^a	12.1 ± 1.35 ^a	14.0 ± 0.95 ^a
<i>n</i> -6	3.30 ± 2.72 ^c	3.20 ± 0.84 ^c	14.2 ± 4.46 ^b	16.5 ± 3.85 ^b	24.1 ± 3.35 ^a	22.8 ± 1.97 ^a	15.3 ± 1.42 ^b	13.0 ± 2.01 ^b
<i>n</i> -3	n.d.	n.d.	7.55 ± 2.72 ^b	9.48 ± 2.41 ^b	12.1 ± 0.86 ^a	14.3 ± 0.86 ^a	12.1 ± 1.35 ^a	14.0 ± 0.95 ^a
<i>n</i> -6 / <i>n</i> -3	-	-	1.88	1.74	1.99	1.59	1.26	0.93

CD; Corn oil diet, PD; Perilla oil diet. Values represent means ± SD. *n*=12. * *n*=5.Two-way ANOVA: within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at *p* < 0.05.

(3) 仔ラットの脳の脂肪酸組成

CD 群と PD 群の脳重量 (g/100gBW) は、両群ともに加齢にともなって低下した ($p < 0.05$) (Table 5)。脳の総脂質量 (mg/g brain) は、両群ともに加齢にともなって増加した ($p < 0.05$)。脳重量と総脂質量には、いずれの日齢においても、両群間で有意な差はみられなかった。

1, 8, 21, 60 日齢仔ラットの脳の脂肪酸組成を Table 5 に示した。両群ともに 1 日齢仔ラットの脳の脂肪酸の 90% 以上は飽和脂肪酸であり、ほかに一価不飽和脂肪酸とドコサジエン酸 (22:2 $n-6$) とドコサトリエン酸 (22:3 $n-6$) が含まれていた。加齢にともなって飽和脂肪酸は減少し、一価不飽和脂肪酸, AA, DHA が増加した。また, 8, 21 日齢の乳児期の脳にはドコサトリエン酸とドコサテトラエン酸の $n-6$ 系脂肪酸が存在していた。 $n-6/n-3$ は 8, 21, 60 日齢のいずれにおいても, CD 群が PD 群に比べて高かった。

(4) 仔ラット胃内容物, 血漿および脳の $n-6$ 系と $n-3$ 系脂肪酸組成

8 日齢仔ラットについて, 胃内容物, 血漿および脳の $n-6$ 系脂肪酸を比較した (Figure 1)。胃内容物の $n-6$ 系脂肪酸は, 両群ともに 90% 以上が LA であったが, 数%のエイコサトリエン酸 (20:3 $n-6$), AA, ドコサテトラエン酸 (22:4 $n-6$), DPA が存在していた。血漿の主要な $n-6$ 系脂肪酸は両群ともに LA と AA であったが, CD 群の AA は PD 群よりも高く, PD 群の LA は CD 群よりも高かった。脳の主要な $n-6$ 系脂肪酸は両群とも

に AA であったが, LA, ドコサトリエン酸, ドコサテトラエン酸も存在していた。AA は PD 群が CD 群よりも高かった。

胃内容物の $n-3$ 系脂肪酸は, CD 群が ALA (63.2%), EPA (7.1%), DPA (8.2%), DHA (21.4%) であったが, PD 群は ALA (87.7%), EPA (5.9%), DPA (4.5%), DHA (1.8%) であった (Figure 2)。血漿の $n-3$ 系脂肪酸は, 97.4% が DHA であり, ALA と EPA も存在していたが, PD 群は ALA (40.0%), EPA (38.9%), DHA (21.1%) であり, DHA は CD 群に比べて低かった。脳の $n-3$ 系脂肪酸は, 両群ともに DHA が 100% であった。

4. 考 察

8 日齢の CD 群仔ラット胃内容物に含まれていた ALA は, 8 日齢仔ラットの血漿にはほとんどなくなり, すべて DHA に変換されていた (Figure 2)。CD 群仔ラット血漿の ALA と EPA の割合は PD 群に比べて低く ($p < 0.05$), PD 群よりも CD 群のほうが DHA は高い傾向を示した (Table 4)。脳に必要な $n-3$ 系脂肪酸を確保するため, ALA から DHA へ急速に合成されたと考えられた。Hussein *et al.*¹⁹⁾ は, ALA を 0.09% に調製した $n-3$ 系脂肪酸欠乏食を摂取させた妊娠マウスの乳汁の ALA は 0.06% であったが, DHA は検出されなかったことを報告している。しかしながら, 生後 20 週齢マウスの血漿の DHA は 0.9%, 脳は 7.7% であり, 母親が摂取したわずかな ALA を利用して合成した DHA が脳に移行したことを示した。われわれは前報において, 2.2% の ALA を含んだラード食を摂取させた母ラットの仔ラット脳の

Figure 1 $n-6$ fatty acid composition in stomach content, plasma and brain of 8 days-old pups nursed by dams fed corn oil and perilla oil diets.

Figure 2 $n-3$ fatty acid composition in stomach content, plasma and brain of 8 days-old pups nursed by dams fed corn oil and perilla oil diets.

DHA はおよそ10%であったことを報告した²⁰⁾。本研究では、CD 群の飼料の ALA は2.4%であったが、両群の仔ラット脳の DHA に有意差がみられなかったことから、乳児の脳の発達のため、妊娠・授乳期には少なくとも2%の ALA が必要であることが考えられた。

両群の仔ラットともに、胃内容物の主要な脂肪酸は LA であったが、エイコサトリエン酸 (20:3 *n*-6) と AA が数%含まれていた (Figure 1)。8 日齢仔ラットの血漿の主要な *n*-6 系脂肪酸は両群ともに LA と AA であるが、CD 群の仔ラットの血漿 AA は PD 群より高かった ($p < 0.05$) (Table 4)。PUFA 合成酵素である $\Delta 6$ 不飽和化酵素の遺伝子 mRNA レベルは、ALA よりも LA で上昇しており²¹⁾、動物実験において *n*-3 系脂肪酸の摂取不足により *n*-6 系脂肪酸の不飽和化が促進されることが報告されている²²⁾。本研究においても、CD 群乳汁の *n*-3 系脂肪酸が低いことから、LA から AA への変換率は CD 群が PD 群よりも高いと推測された。

8 日齢の PD 群仔ラット胃内容物の *n*-3 系脂肪酸は CD 群の11.8倍であったが、血漿の *n*-3 系脂肪酸は CD 群の3.7倍となり、脳では両群間で有意な差はみられなくなった (Table 4, 5)。また *n*-6 系脂肪酸についても、CD 群仔ラット胃内容物は PD 群の1.4倍であったが、血漿の *n*-6 系脂肪酸は PD 群の1.3倍となり、脳では両群間で有意な差はみられなくなった (Table 4, 5)。このように、両群の仔ラットが摂取した乳汁の *n*-6 系および *n*-3 系脂肪酸組成が異なっていたにもかかわらず、脳の脂肪酸組成はほぼ変わらないように調整されていた。両群ともに脳の *n*-6 系脂肪酸は加齢にともない増加したが、60日齢では低下した。21日齢と60日齢仔ラット脳を比較すると、AA (20:4) に変化がなかったが、ドコサトリエン酸 (22:3) やドコサテトラエン酸 (22:4) が60日齢では低下した。妊娠・授乳期に魚油食とラード食を用いた実験においても、35日齢仔ラット脳の *n*-6 系脂肪酸は23日齢に比べて低値を示した²³⁾。脳の主要な脂肪酸が *n*-6 系は AA であり、*n*-3 系は DHA であること¹⁾、マウスにおける脳の $\Delta 6$ 不飽和化酵素活性は生後35日から60日目にはなくなることから⁴⁾、離乳後しばらくしてから脳の形成はほぼ完了すると考えられた。

生後1日目から21日目までの仔ラット脳の脂質増加率は CD 群が2.9倍、PD 群が3.3倍であった。急激な脳の発達のための脂質とエネルギー供給が行われていると推測された。1 日齢仔ラットの脳では90%以上が飽和脂肪酸で、一価不飽和脂肪酸と *n*-6 系脂肪酸がそれぞれ3%ずつ検出され、*n*-3 系脂肪酸は検出されなかった (Table 5)。脳のミエリン化には DHA が必要不可欠であり、脳細胞が形成される時期に DHA が不足すると脳の発育不全になることが報告されている^{2, 5, 13)}。ラット脳のミエリン形成は生後14日ごろから始まるため²⁴⁾、この時期にもっとも脳脂質が蓄積されると考えられた。本研究においても、両群ともに8日齢から21日齢にかけて脳の

n-6 系および *n*-3 系脂肪酸がもっとも増加した。さらに、仔ラットの成長とともに脳の *n*-6 系および *n*-3 系脂肪酸は2群間の差が小さくなり、*n*-6/*n*-3 は両群とも1に近づいた。また、60日齢仔ラットの脳は、両群ともにそれぞれの母ラット脳の *n*-6/*n*-3 にも近かった。

本研究は、ALA 含量の低いコーン油と高いシソ油食を妊娠・授乳期ラットに与え飼育した。授乳期仔ラットの血漿脂質濃度と血漿中の脂肪酸組成には大きな変化をもたらしたが、仔ラットの脳の脂肪酸組成はほぼ変わらないように調整されていた。しかしながら、脳神経のミエリン化が進む授乳期には、血液脳関門 (blood-brain barrier) が完成されていないため、食餌脂質は脳のミエリン形成に影響を及ぼすことが報告されている^{2, 25)}。妊娠・授乳期には、EFA である ALA 欠乏にならないような食生活を心がけることが重要である。

文 献

- 1) Innis, S.M., Dietary (*n*-3) fatty acids and brain development. *J. Nutr.*, 137, 855-859 (2007)
- 2) Yehuda, S., Rabinovitz, S., Mostofsky, D.I., Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. *Neurobiol. Aging.*, 1, 98-102 (2005)
- 3) Helland, I.B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O.D., Drevon, C.A., Maternal supplementation with very-long-chain *n*-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics.*, 111, e39-e44 (2003)
- 4) Bourre, J.M., Bonneil, M., Clement, M., Dumont, O., Durand, G., Lafont, H., Nalbone, G., Piciotti, M., Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 48, 5-15 (1993)
- 5) Bowen, R.A., Clandinin, M.T., Maternal dietary 22:6 *n*-3 is more effective than 18:3 *n*-3 increasing the 22:6 *n*-3 content in phospholipids of glial cells from neonatal rat brain. *Br. J. Nutr.*, 93, 601-611 (2005)
- 6) Suzuki, H., Manabe, S., Wada, O., Crawford, M.A., Rapid incorporation of docosahexaenoic acid from dietary sources into brain microsomal, synaptosomal and mitochondrial membranes in adult mice. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 67, 272-278 (1997)
- 7) Qiu, J., Zhang, X., Luo, M., Li, H., Dong, J., Wang, J., Leng, B., Wang, X., Feng, H., Ren, W., Deng, X., Subinhibitory concentrations of perilla oil affect the expression of secreted virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*. *PloS One.*, 6, 1-8 (2011)
- 8) Eckert, G.P., Franke, C., Noldner, M., Rau, O., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M., Muller, W.E., Plant derived omega-3-fatty acids protect mitochondrial function in the brain. *Pharmacol. Res.*, 61, 234-241 (2010)
- 9) Barcelo-Coblijn, G., Murphy, E.J., Othman, R., Moghadasian, M.H., Kashour, T., Friel, J.K., Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell *n*-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of *n*-3 fatty acid. *Am. J. Clin. Nutr.*, 88, 801-809 (2008)
- 10) Cunnane, S.C., Ganguli, S., Menard, C., Liede, A.C., Hama-

- deh, M.J., Chen, Z.Y., Wolever, T.M.S., Jenkins, D.J.A., High α -linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. *British. J. Nutr.*, 69, 443-453 (1993)
- 11) Brenna, J.T., Animal studies of the functional consequences of suboptimal polyunsaturated fatty acid status during pregnancy, lactation and early post-natal life. *Matern. Child. Nutr.*, 2, 59-79 (2011)
- 12) Harris, W.S., Connor, W.E., Lindsey, S., Will dietary ω -3 fatty acids change the composition of human milk?. *Am. J. Clin. Nutr.*, 40, 780-784 (1984)
- 13) Berkow, S.E., Campagnoni, A.T., Essential fatty acid deficiency: effects of cross-fostering mice at birth on myelin levels and composition. *J. Nutr.*, 113, 582-591 (1983)
- 14) 金沢文子, 渡辺ゆかり, 杉本智美, 城田由里, 藤本健四郎: 仔ラットの肝臓と大脳皮質脂質および脂肪酸組成に及ぼす泌乳期ラットのドコサヘキサエン酸メチルエステル摂取の影響. 日本栄養・食糧学会誌, 48, 173-180 (1995)
- 15) 小松崎典子, 海老原亜耶, 中嶋洋子: 母親が摂取したコーン油とシソ油が仔ラットの胃内容物組成と血漿脂質濃度に及ぼす影響. 日本食生活学会誌, 22, 234-240 (2011)
- 16) Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G.C., AIN-93 purified diet for laboratory rodents: final reports for the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-1951 (1993)
- 17) Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H., A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509 (1957)
- 18) Morrison, W.R., Smith, L.M., Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl-acethyl from lipids with boron fluoride-methanol, *J Lipid Res* 5, 600-608 (1964)
- 19) Hussein, N., Fedorova, I., Moriguchi, T., Hamazaki, K., Kim, H.Y., Salem, N., Artificial rearing of infant mice leads to n-3 fatty acid deficiency in cardiac, neural and peripheral tissues. *Lipids*, 44, 685-702 (2009)
- 20) 小松崎典子, 薄井智美, 鳥海恵莉, 山田有香, 中嶋洋子: 母ラットのラードおよび魚油添加飼料摂取が仔ラットの胃内容物組成と血漿脂質濃度に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, 63, 107-114 (2010)
- 21) Harnack, K., Andersen, G., Somoza, V., Quantitation of alpha-linolenic acid elongation to eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid as affected by the ratio of n 6 /n 3 fatty acids. *Nutr Metab*, 6, 1-11 (2009)
- 22) Innis, S.M., Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res*, 30, 39-103 (1991)
- 23) 小松崎典子, 薄井智美, 鳥海恵莉, 山田有香, 中嶋洋子: 妊娠・授乳期ラットのラードおよび魚油摂取が仔ラットの胃内容物組成と脳の脂肪酸組成に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, 63, 227-235 (2010)
- 24) 伊藤薫: 脳と神経の生物学, 培風館, 東京, pp.128-134 (1996)
- 25) Salvati S, Sanchez M, Campeggi LM, Suchanek G, Breitschop H, Lassmann H. 1996. Accelerated myelinogenesis by dietary lipids in rat brain. *J Neurochem* 67: 1744-1750