

日本人の血中脂肪酸組成に及ぼす肥満および加齢の影響

関根 美恵, 上岡 薫, 岩淵 美香
岡山 和代, 若村 明子, 鈴江緑衣郎

Effect of Obese and Aging on Blood Fatty Acid Consumption in Japanese

Mie SEKINE, Kaoru KAMIOKA, Mika IWABUCHI,

Kazuyo OKAYAMA, Akiko WAKAMURA and Ryokuero SUZUE

The effect of obese and aging on the human plasma and red blood cells (RBC) membrane fatty acid compositions were examined. Blood samples were obtained from 159 obesity Japanese males and 67 normal weight Japanese males, from each decade of life from 20 to 50 years of age.

At the aging effect, positive correlations between the levels of EPA, DHA and n-3/n-6 ratio and aging were obtained in both plasma and RBC membrane for each groups. On the other hand, negative correlations between Linoleic acid and aging was obtained for all of them.

The n-3/n-6 ratio were higher for normal weight males than for obesity males in both of plasma and RBC.

1. 緒言

日本人の食生活は、戦後の高度経済成長に伴い急速に欧米化し、特に脂肪摂取量の増加、n-3/n-6 比の低下が進行しており、心筋梗塞などの循環器疾患の罹患率が急速に増加しつつある。しかし、未だ欧米諸国ほど深刻化していない理由の一つに、日本人の n-3 系多価不飽和脂肪酸を多く含む魚介類の摂取量が多いことが注目されている。

血中脂肪酸組成は、食事による脂肪摂取状況をよく反映することが分かっており、日本人の血中脂肪酸組成は、欧米先進国に比べ、EPA, DHA などのn-3系多価不飽和脂肪酸レベルが高く、n-3/n-6 比も高いことが明らかとなってきている。しかし近年、若年者の間から魚離れが進行し、欧米様の肉類中心の食生活が、今後

n-3/n-6 比の低下を引き起こすことが懸念されており、また増加しつつある肥満についても心疾患をはじめとする成人病のリスクファクターとして問題視されている。このような観点から、血中脂肪酸組成に及ぼす肥満および加齢の影響を非肥満者との比較により明らかにすることは、脂肪摂取上の問題点を明確とし、適正な摂取方法を検討する上で大いに重要なことと考えられる。

本研究では、健常男性ボランティア226名の内、肥満者159名、非肥満者67名を対象に血漿および赤血球膜の脂肪酸組成を測定し、各脂肪酸について肥満者と非肥満者間の比較および加齢の影響を検討した。

2. 実験方法

1. 被験者

福井県庁ならびにその附属機関に勤務する、健常男性ボランティア226名の内、肥満者159名、非肥満者67名の協力により行なった。

肥満者と非肥満者の位置づけは、厚生省発表の「肥満と痩せの判定表の図」より90%ラインを越えるものを肥満者とし、それ以外のものを非肥満者とした。

被験者の年齢別内訳をTable 1に示す。

Table 1 Subjects

AGE	Control	Obesity	TOTAL
20y	3	4	7
30y	8	45	53
40y	29	40	69
50y	27	70	97
TOTAL	67	159	226

2. 試料の調製

(1) サンプルの採血および前処理

全血液サンプルは、早朝空腹時に5mlをヘパリン採血し、2600rpmで10分間遠心分離を行い血漿と血球成分に分離した。

血漿は共栓試験管に移し-70℃にて予備凍結後、凍結乾燥を行なった。

血球成分は、まず赤血球膜表面を洗浄するため、生理食塩水10mlを加え、2600rpmで10分間遠心分離を行ない、上澄液をアスピレーターで吸引除去した。上澄液が透明になるまで繰り返した後、赤血球の沈澱を遠沈管に移し、5mMリン酸緩衝液 (pH 7.5) を加えよく攪拌し溶血させ、高速遠心分離装置により15000rpmで10分

間遠心分離を行ない、血色素を含む上澄液をアスピレーターで吸引した。上澄液が無色になるまで洗浄を繰り返し、白色の沈澱物となった赤血球膜を得た。この沈澱物を共栓試験管に移し、約1mlのリン酸緩衝液を加え予備凍結した後、血漿と同様に凍結乾燥を行なった。

(2) 脂肪酸のメチル化

凍結乾燥終了後の血漿および赤血球膜の全サンプルに、内部標準として0.15%-ペンタデカン酸溶液 (ペンタデカン酸メチルエステル15mgを、メタノール10mlに溶解した) を50 μ l加え、さらに無水塩酸-メタノール溶液2mlを加えた。これを恒温器で100℃、2時間反応させ脂肪酸をメチル化後、直ちに氷冷し、抗酸化剤として0.01% 2, 6-ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) を添加したヘキサン溶液5mlを加え、2600rpmで10分間遠心分離を行なった。メチル化された脂肪酸エステルが移行しているヘキサン層 (上層) を、無水塩酸ナトリウムにて脱水後、2mlのサンプル管に移し、約30℃で窒素気流下にて溶媒を完全に溜去した。測定直前に血漿は約100 μ l、赤血球膜は約50 μ lのヘキサンに溶解し、GC測定用試料とした。⁽¹⁾(Fig. 1 参照)

(3) 脂肪酸の分離と同定

血液サンプルの脂肪酸の分離および同定は、極性の少ないキャピラリーカラム 内径0.25mm \times 25mm (ULBON HR THERMON 3000B 信和工業株式会社) を装着した、ガスクロマトグラフィー・島津 GC-14A型及び日立 G3000型を用い、データ処理に島津C-R4Aクロマトバックデータシステム及び日立D-2000を使用した。検出器はFIDを使用し、キャリアーガスとしてヘリウムガスを使用した。

インジェクター温度250℃、ディテクター温度250℃に保持し、カラム温度は140℃から

240℃まで3℃/分で昇温分析を行なった。スプリット比は50:1とした。

脂肪酸のピークの同定は、研究室で開発した脂肪酸自動同程ソフトによる脂肪酸標準品との保持時間の比較および日立GC-MS M-80B型によって行なった。

3. 統計処理

サンプルの脂肪酸構成比率は、研究室で作製した脂肪酸自動計算処理ソフトを用い、パーソナルコンピューター (NEC PC-9801 DX) にて算出した。統計処理は、ANOVAおよびDUNCANの相関分析によって行った。

それぞれの平均値の有意差検定にはT-検定を用いた。

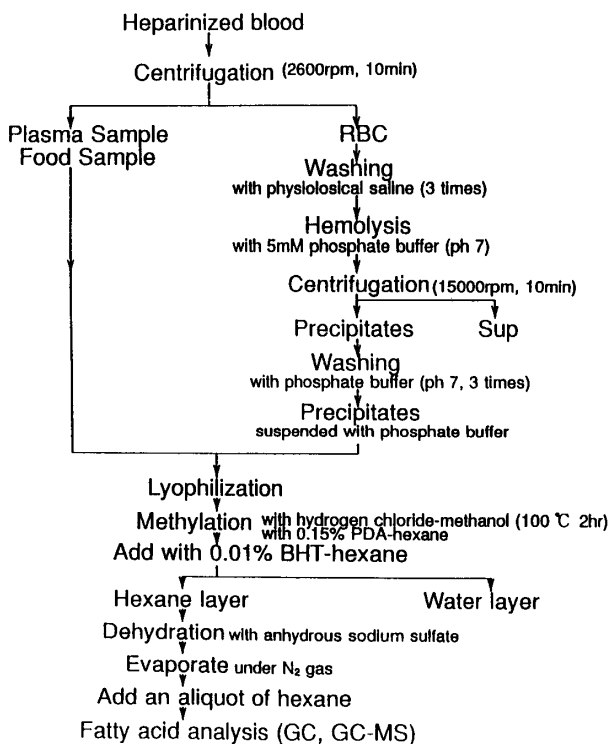


Fig. 1 Treatment of Blood Samples for Gas-Chromatography

3. 実験結果

1. 血中脂肪酸のガスクロマトグラム

血漿と赤血球膜のガスクロマトグラムの一例を、Fig. 2とFig. 3に示す。

血液中脂肪酸として、C12:0, C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0, C16:1n-7, C17:1, C18:1n-7, C18:1n-9, C20:1n-9, C24:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C18:3n-6, C20:3n-9, C20:3n-6, C20:4n-6, C20:5n-3(EPA), C22:4n-6, C22:5n-3, C22:6n-3(DHA)の24種類が確認された。

2. 血漿脂肪酸組成と加齢の影響

全脂肪酸組成の内、注目すべきものとして、パルミチン酸(C16:0), ステアリン酸(C18:0), パルミトオレイン酸(C16:1n-7), オレイン酸(C18:1n-9), リノール酸(C18:2n-6), アラキドン酸(C20:4n-6), α -リノレン酸(C18:3n-3), EPA(C20:5n-3), DHA(C22:6n-3)の9種とそれぞれのn-3/n-6比, およびP/S比について, 加齢の影響を検討した結果をTable 2に示す。

血漿脂肪酸組成では, パルミチン酸, パルミトオレイン酸, アラキドン酸, EPA, DHA, n-3/n-6比は, 非肥満群で有意に高く, ステアリン酸, オレイン酸, α -リノレン酸は肥満群で高かった。リノール酸に有意差は認められなかった。

加齢による影響としては, 非肥満者では, 加齢に伴いパルミトオレイン酸, DHA, n-3/n-6比が有意な正の相関を示し, リノール酸には負の相関が認められた。一方, 肥満者群ではパルミトオレイン酸が有意な正の相関を示した以外に, 統計上の有意な相関は認められなかった。しかし, α -リノレン酸が非肥満者群では加齢に伴い増加傾向にあるのに対し, 肥満者群では減少傾向が認められた。

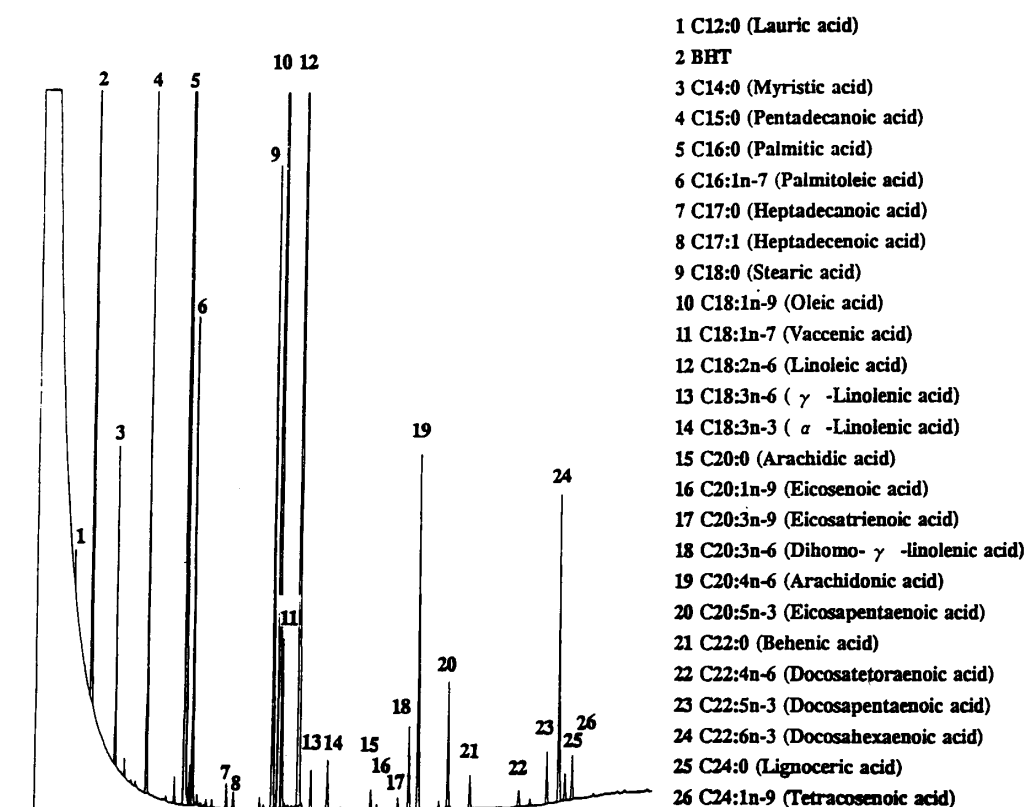


Fig. 2 Gas-Chromatogram of Human Plasma

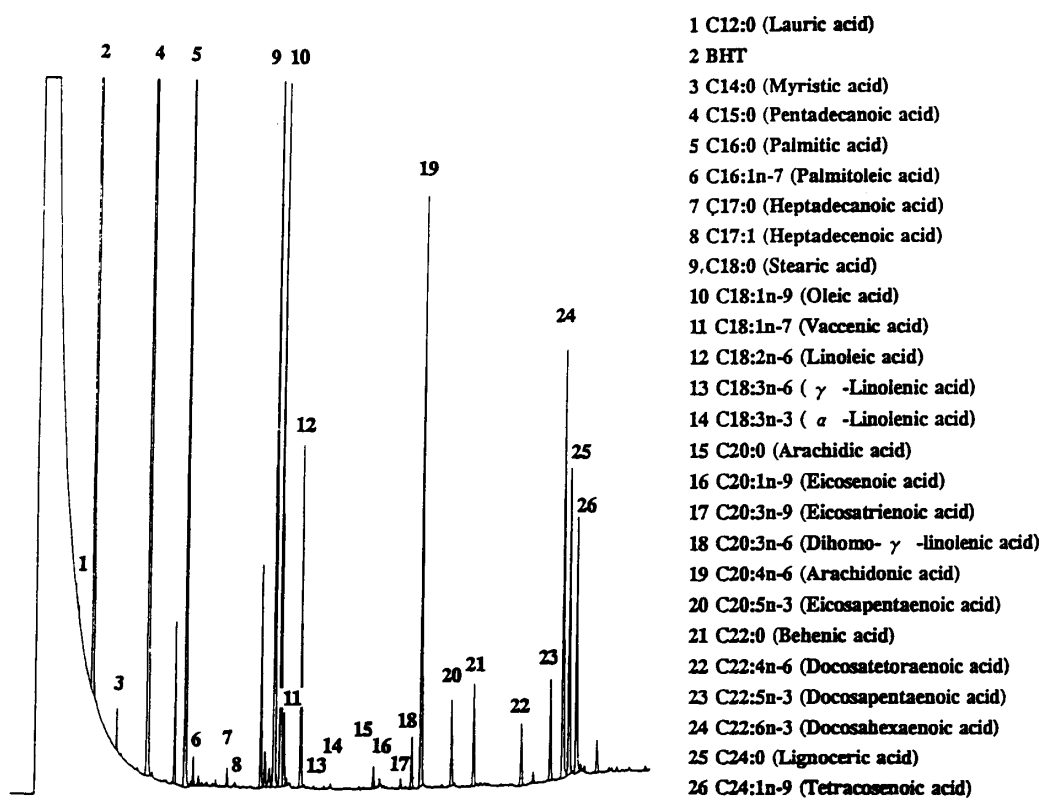


Fig. 3 Gas-Chromatogram of Human RBC

Table 2 Effect of Obesity on Plasma Fatty Acid Composition of Japanese Male and Correlation with Aging

Control n=67			Obesity n=159		
	Mean score	Age	Mean score	Age	
16:0	28.06 ± 0.90 ^Δ	0.25806	26.64 ± 0.55	0.17680	
18:0	7.04 ± 0.23	-0.04004	7.13 ± 0.16 ^Δ	0.02017	
16:1n-7	3.05 ± 0.42 ^Δ	0.32965*	2.91 ± 0.19	0.21436*	
18:1n-9	18.42 ± 2.24	0.02278	20.00 ± 2.86 ^Δ	-0.10518	
18:2n-6	24.15 ± 1.47	-0.42979*	23.99 ± 0.79	-0.17984	
20:4n-6	4.31 ± 0.32 ^Δ	-0.21529	4.12 ± 0.19	-0.10640	
18:3n-3	0.84 ± 0.11	0.13952	1.02 ± 0.07 ^Δ	-0.07415	
20:5n-3	2.66 ± 0.39 ^Δ	0.29440	2.28 ± 0.24	0.18629	
22:6n-3	3.81 ± 0.36 ^Δ	0.42964*	3.54 ± 0.19	0.11889	
n-3/n-6	0.28 ± 0.03 ^Δ	0.47311*	0.26 ± 0.02	0.17919	
P/S	1.01 ± 0.07	-0.29225	1.03 ± 0.05	-0.08776	

Values are Means (mol% of total fatty acid) ± SD.

* The significant correlation with P<0.01.

^Δ The significant difference with p<0.01.

Table 3 Effect of Obesity on RBC Fatty Acid Composition of Japanese Male and Correlation with Aging

Control n=54			Obesity n=148		
	Mean score	Age	Mean score	Age	
16:0	31.35 ± 1.00	0.38722*	32.27 ± 0.73 ^Δ	0.18441	
18:0	16.87 ± 0.39 ^Δ	-0.12476	16.70 ± 0.31	-0.05917	
16:1n-7	1.11 ± 0.19 ^Δ	0.22267	0.89 ± 0.11	0.2114	
18:1n-9	13.41 ± 1.33	0.04741	15.07 ± 1.83 ^Δ	-0.34243	
18:2n-6	8.27 ± 0.51	-0.32448*	8.32 ± 0.36 ^Δ	-0.20056	
20:4n-6	7.08 ± 0.42 ^Δ	-0.26334	6.22 ± 0.37	-0.12593	
18:3n-3	0.20 ± 0.08 ^Δ	0.12910	0.15 ± 0.03	-0.07403	
20:5n-3	1.55 ± 0.20 ^Δ	0.35558*	1.18 ± 0.11	0.22032*	
22:6n-3	4.45 ± 0.38 ^Δ	0.04071	3.01 ± 0.25	0.05178	
n-3/n-6	0.45 ± 0.05 ^Δ	0.32658	0.34 ± 0.02	0.21527*	
P/S	0.46 ± 0.03	-0.28045	0.39 ± 0.02	-0.09608	

Values are Means (mol% of total fatty acid) ± SD.

* The significant correlation with p<0.01.

^Δ The significant difference with p<0.01.

3. 赤血球膜脂肪酸組成と加齢の影響

注目すべき9種の脂肪酸について赤血球膜脂肪酸組成および加齢の影響を検討した結果をTable 3に示す。

赤血球脂肪酸組成では、肥満者群においてパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸が有意に高値を示した以外、すべての脂肪酸が非肥満者群において有意な高値を示した。n-3/n-6比も非肥満者群に高かった。

加齢の影響としては、非肥満者群のパルミチン酸に有意な正の相関、リノール酸に負の相関が認められた。EPAには、両群とも有意な正の相関が認められた。また、血漿n-3/n-6比は非肥満者群で有意に増加していたが、肥満者群では認められなかったのに対し、赤血球膜n-3/n-6比では、血漿とは逆に非肥満者には相関は認められず、肥満者群に正の相関が認められた。

4. 考 察

(1) 肥満者と非肥満者の血漿脂肪酸組成と加齢の影響について

血漿脂肪酸組成は食生活の影響をよく反映することが分かっている。飽和脂肪酸であるパルミチン酸は、バターや肉類などに多く含まれているが、米などの穀類にも多く含まれている⁽²⁾。一方ステアリン酸は、豚肉をはじめとする肉類やサラダ油などの植物油に多く含まれている。リノール酸、 α -リノレン酸などは、高級植物性油脂として広く市場に出回っており、これらの摂取量の増減により血中リノール酸、 α -リノレン酸レベルも対応することが分かっている⁽³⁾。またアラキドン酸、EPA、DHAは、魚介類、特にイワシ、サンマ、アジなど背の青い魚に多く含まれており、これらの高摂取頻度が血中EPA、DHAを増加させることも明らかとなっている⁽³⁾。

血漿脂肪酸組成において、非肥満者では肥満者に比べ、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、アラキドン酸、EPA、DHAが有意に高値を示

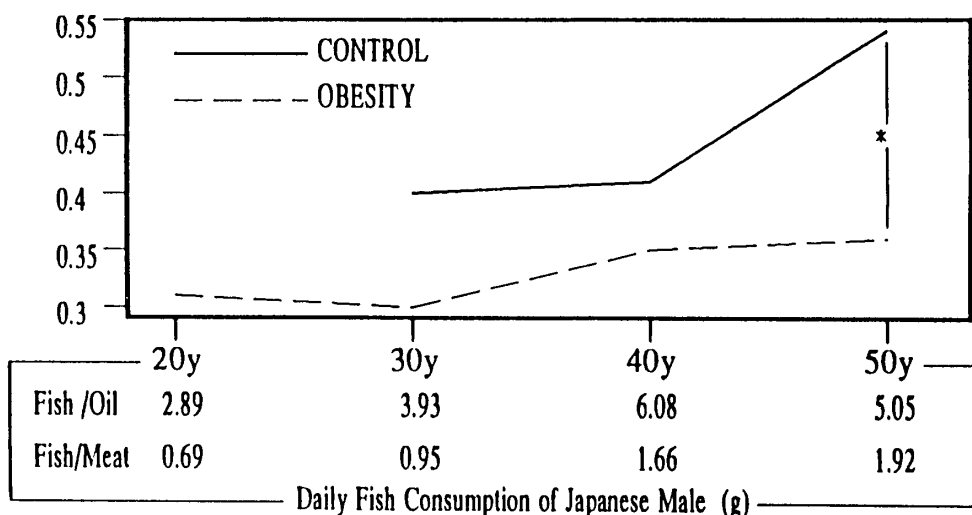


Fig. 4 Effect of Aging on n-3/n-6 ratio of RBC in Male

していた。一方、ステアリン酸、オレイン酸、 α -リノレン酸は、肥満者に高値であった。また、リノール酸については、両者間に有意差が認められなかったことから、両者の食形態を植物油摂取以外の観点から推察すると、非肥満者に多い脂肪酸群は、米、魚介類を多く摂取する伝統的日本食形態を反映しているものと考えられる。一方、肥満者に多い脂肪酸群は、豚肉、鶏肉などをはじめとする肉類摂取が多い傾向が推察され、さらに α -リノレン酸の高値に関しては、サラダ油の高摂取が反映しているものと考えられる。

n-3/n-6比は、非肥満者群に有意に高値であり、これはEPA、DHAレベルの差が大きく影響しているものと考えられ、肥満者は非肥満者より、魚介類の摂取比率が低いことが示唆された。

血漿脂肪酸組成に関する加齢の影響としては、食生活の変化と関連づけて考えることが重要となる。日本人の加齢に伴う食生活の特徴的動向としては、国民栄養調査結果より、油脂類、鳥獣肉類の摂取量の減少、および穀類、魚介類の摂取量の増加が認められている⁽⁴⁾。このような傾向は、血漿脂肪酸組成に影響しており、特に非肥満者では、パルミトオレイン酸とDHAの有意な正相関およびリノール酸の負の相関に反映されていると考えられる。肥満者でも非肥満者ほど顕著ではないが、リノール酸、 α -リノレン酸が減少し、EPA、DHA、n-3/n-6比が増加するという同様の傾向が認められており、加齢に伴い魚介類の摂取頻度が増加してくることが示唆された。しかし、非肥満者に比べるといずれの年代においても低値を示しており、肥満者のn-3系多価不飽和脂肪酸が少ないことによる成人病リスクとの関わり合いが懸念される。

(2) 肥満者と非肥満者の赤血球膜脂肪酸組成と加齢の影響について

赤血球膜脂肪酸組成においても、非肥満者の方が、EPA、DHAをはじめとするn-3系多価不飽和脂肪酸レベルが肥満者に比べ有意に高いことが認められた。n-3/n-6比も非肥満者で有意に高く、この傾向は血漿より顕著に認められた。血漿脂肪酸組成が短期間の食生活を反映するのに対し、赤血球膜脂肪酸は長期間にわたる日常生活の影響を反映するものと考えられる。⁽⁵⁾

加齢の影響としては、血漿と同様にリノール酸が減少傾向にあり、パルミチン酸、EPA、DHAは増加傾向が認められた。血漿ではEPAよりDHAの方が顕著な正の相関が認められていたが、赤血球膜では、EPAに両者とも有意な正の相関が認められている。魚介類中には、EPAよりDHAの含有量の方が多いことが血漿DHAレベルに反映しているものと推察される。

加齢による血清および赤血球膜リン脂質の脂肪酸組成を測定した宮原等の研究では、本研究結果と同様に、飽和脂肪酸であるパルミチン酸が加齢に伴い増加し、リノール酸は減少している⁽⁶⁾。このような加齢に伴うリノール酸の減少は、加齢つまり老化現象として、リン脂質の膜組織への取り込みに作用する酵素の活性が低下することにより、リン脂質の選択過程が変化するためではないかと推察されている。さらに、一年間同じ食事をした老人の血漿脂肪酸組成が、加齢と共に変化したとの報告もあり⁽⁷⁾、加齢に伴う血中脂肪酸組成の変化は、食生活と同時に老化による代謝変化が大きく影響するものと考えられ、脳卒中や心臓疾患など高齢者の疾患構造にも関連してくるものと推察される。

最近の栄養疫学調査等の結果では、リノール酸などn-6系多価不飽和脂肪酸の摂取に比べ、n-3系多価不飽和脂肪酸であるEPA、DHAを含む魚介類の摂取量が少ないことが、アラキドン酸由来のエイコサノイド(TXA2)の作用を過剰にし、血小板凝集能を高めることから、血栓性

疾患の重要な危険因子となることが明らかにされてきている。n-6系エイコサノイドの前駆物質であるアラキドン酸に拮抗するEPAレベルが、赤血球膜で加齢に伴い高レベルを示したことは、n-3系エイコサノイド合成との関わりを検討する上で興味深い。

肥満者でも加齢に伴いn-3/n-6比は増加傾向にあり、これは国民栄養調査結果から検討した年代別の魚介類摂取比率の増加にも対応している (Fig. 4 参照)。しかし、非肥満者に比べるといずれの年代においても低値を示しており、肥満者のn-3系多価不飽和脂肪酸摂取が少ないことによる成人病リスクとの関わりが懸念される。

国民栄養調査の研究によれば現状の日本人のn-3/n-6比は、ほぼ適当と考えられている⁽⁴⁾が、本調査結果から若年者ほど血中n-3/n-6比が低下する傾向が顕著に認められており、日本人の魚離れが若年者の間で進んでいることが示唆された。また、近年増加傾向にある肥満者の血中n-3/n-6比が非肥満者に比べ有意に低いという本研究結果からも、新しい脂肪摂取指針として、n-3/n-6多価不飽和脂肪酸摂取比率の適性値を早急に確立提言することが強く求められる。

n-3/n-6比の適正摂取比率に関しては、未だ定説はなく、研究者によってかなりの差が認められるが、山口等は日本人および外国人の食物油脂摂取状況や健康状態との比較から、適正值として0.3~0.15とするのが望ましいとしている⁽⁸⁾。

5. 要約

1. 健常日本人男性226名の内、肥満者159名、非肥満者67名を対象に、血漿および赤血球膜の脂肪酸組成平均値を測定し、加齢および肥満の影響について比較検討を行った。

2. n-3系多価不飽和脂肪酸であるEPA, DHAは加齢に伴い増加傾向にあり、n-6系多価不飽和脂肪酸であるリノール酸には減少傾向が認められた。

3. 肥満者、非肥満者ともに、加齢に伴いn-3/n-6比が高くなる傾向が認められたが、いずれの年代においても肥満者のn-3/n-6比は非肥満者に比べ低値であることが認められた。

4. 以上の結果から、現在の日本人の食物油脂摂取状況はほぼ適当と考えられるが、今後の肥満者の増加や若年者の魚離れによりn-3/n-6比が低下することを憂慮し、心臓疾患等の予防のためにも早急なn-3/n-6適性比率を検討することが望まれる。

参考文献

1. Stoff, W., Chu, F., Ahrens, E. H.: *Anal. Chem.*, 31, 307. (1959)
2. 日本食品脂溶性成分表, 科学技術庁資源調査会 (1989)
3. Ognleye, A. J., Yamaguchi, K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 35, 423-430. (1990)
4. 平成6年度版 国民栄養の現状, 第一出版 (1994)
5. 宮原忠男, 村井淳志, 藤本直規, 塩栄夫, 亀山正邦: *動脈硬化*, 12, 795. (1984)
6. 宮原忠男, 藤本直規: *日本老年医学学会雑誌*, Vol. 24, 2, 115-120. (1987)
7. Takahashi, R., Ito, H., Horrobin, D. F.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 37, 401-409. (1991)
8. Yamaguchi, K.: *Proceedings of International Symposium on Food Nutrition and Economic Development.*, 394-400. (1992)