J Life Sci Res 2013; **11**: 11-15
© 2013 Osaka Prefecture University
Journal of Life Science Research
Online ISSN 2186-5809

速　報

妊娠期高脂肪食は仔マウスに影響する
–餌の種類の検討–

澤井　彩，黒瀬結子，山野眞利子†

大阪府立大学　総合リハビリテーション学部　栄養療法専攻
583-8555 羽曳野市はびきの3-7-30

受付：2013年9月24日，受理：2013年11月7日

Maternal high-fat diet caused hyperactivity in the offspring mice-study of fatty acid composition

Aya Sawai, Yuiko Kurose, and Mariko Yamano†

Department of Clinical Nutrition, School of Comprehensive Rehabilitation, Osaka Prefecture University, 3-7-30 Habikino, Habikino City, Osaka 583-8555, Japan

Received 24 September 2013; accepted 7 November 2013

Key words : maternal high-fat diet（妊娠期高脂肪食）; pups（仔）; hyperactivity（多動）; fatty acid composition（脂肪酸組成）

1　はじめに

近年，食の欧米化により脂質の多い食事摂取頻度が増えたことから，食事に占める脂肪エネルギー比が増加している．健康増進や疾病予防の観点から国の施策の「健康日本21」では20～40歳の１日あたりの平均脂肪エネルギー比率の目標値を 30～25% 以下と定めているが[1]，しかし昨年度の国の調査では，男女とも殆どの世代で平均値がこの目標値を超えており，国民的に脂質の摂取過多が問題となっている[2]，また，胎児期における母体内環境が胎児の将来のメタボリックシンドローム（肥満・高血圧・糖代謝異常・脂質代謝異常）や生活習慣病の発症を左右するというエピジェネティクスの概念が提唱されてきた[3]. エピジェネティクスとは遺伝子の本体である DNA 上の化学修飾による遺伝子調節システムである．これは特に脳神経において重要で，その破たんは様々な先天性発達障害疾患を招くとされている[4]．これに加え，胎児期の微細な神経回路の形成障害が将来の疾患の発症の脆弱性基盤に関係するとされ，胎児期の母体内環境が脳の発達にも大きく影響を及ぼす可能性が指摘されている[5]. 近年, 広汎性発達障害（自閉症など），学習障害（LD），注意欠陥多動性障害（ADHD）などの発達障害を持つ患者が増えているが[6,7]，このことに神経発達障害仮説が関係していると考えられる．

Chang らは妊娠６日目から出産まで母親マウスに脂肪エネルギー比率 50% の高脂肪食を摂取させると，胎児の脳室周囲の視床下部となる神経細胞の分化が促進されたと報告している[8]．また，これらのマウスは成熟期以降，室傍核や外側野の神経細胞数が増加し，視床下部外側野のオレキシン mRNA の量が1.5倍になるということを報告している[8]. オレキシン神経細胞は脳の摂食中枢である視床下部外側野に存在している[9]. このオレキシンには神経伝達物質であるドーパミンやノルアドレナリンなどのカテコールアミンの生合成促進作用がある．これらノルアドレナリン神経やドーパミン神経は生体の活動を亢進させることも知られている[10].

これまでの我々の研究において，妊娠中期以降（６日～出産まで）にラードを主成分とした脂肪エネルギー比率 50% の高脂肪食を与えた母から生まれた仔において，オレキシン神経細胞数が増加し，さらに自発運動量も増加するということを明らかにした[11,12]．このことから，自発運動量の増加，すなわち多動に影響するものが妊娠期の高脂肪食であることが示唆され，また多動であることから，ヒトの ADHD のモデル動物になる可能性も考えられる．

† 連絡著者　E-mail: myamano@rehab.osakafu-u.ac.jp

ラード 100 g 中には脂肪酸が豊富で，およそ飽和脂肪酸は 40 g(主にパルミチン酸 24 g)，一価不飽和脂肪酸は 45 g(主にオレイン酸 41 g)，その他多価不飽和脂肪酸が 11 g 含まれている[13]．そこで本研究は，妊娠期に与える高脂肪成分のうち，飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸のどちらの脂肪酸が成熟後の仔の自発運動量増加を引き起こしているか否かを検討する目的で，飽和脂肪酸からは C16：0 のパルミチン酸を，一価不飽和脂肪酸からは C18：1 のオレイン酸を選んで餌を 45～50% の高脂肪に調合し妊娠マウスに与え検討した．

2　方法

動物飼育方法は試料及び水は自由摂取とし，飼育は個別ケージで室温 22±2 ℃，1 日12時間の採光周期（8:00 am～8:00 pm 明期）の動物舎で行った．動物は日本 SLC から妊娠 1 日目の ICR マウス21匹を購入し，普通食群（ND 群；n＝7），高脂肪食群（HFD 群; n＝14）に分けた．普通食群には継続して普通食飼料（オリエンタル酵母社：MF/脂質 12.8% kcal，たんぱく質 25.7% kcal，炭水化物 61.5% kcal）を与えた．高脂肪食群には妊娠 1 日目から 5 日目は普通食群と同じ普通食を与え，6 日目から14日目は 3 群に分けいずれも餌 100 g 中，第 1 群（パルミチン酸食；n＝4）は MF 81 g とパルミチン酸（Wako 社製）19 g を，第 2 群（オレイン酸食; n＝5）は MF 88 g にオレイン酸（Wako 社製）23 g を加え，第 3 群（ラード食; n＝5）は MF 77 g にラード（雪印社製）18 g[11]，コーン油（味の素社製）5 g を与えた．いずれも妊娠14日以降は再び普通食を与えた．普通食，高脂肪食の飼料成分と PFC のエネルギー比率については Table 1 に，飼料の脂肪酸組成については Table 2 に示す．高脂肪食については週 3 回作製し与えた．出産後も全群とも継続して普通食を与えた．生後 3 週目に親マウスから仔マウスを離し集団（各 5 匹）で飼育した．本実験はオスのみを使用した．仔マウスは全群とも普通食を与えた．全期間普通食を与えた母マウスから生まれた仔マウスを ND 群，高脂肪食を与えた母マウスから生まれた仔マウスを HFD 群とする．HFD 群については妊娠期にオレイン酸食を与えた母マウスから生まれた仔マウスを O-HFD 群，パルミチン酸食を与えたものを P-HFD 群，ラード食を与えたものを L-HFD 群とする．

出生後 3 か月から 4 か月に各群から仔マウスをランダムに（5～25匹）選択し，個別ゲージに移動させ，自由に飲食や移動ができる状態で，赤外線センサーで運動量を感知できる自発行動量測定装置（MDC-WO1,ブレインサイエンス・イデア社製）を用いて約 1 週間各マウスの自発運動

Table 1　各飼料の配合と PFC のエネルギー比率

	飼料配合（100g中）	エネルギー比率 P（%）	F（%）	C（%）
普通食（ND）	MF　100g	25	13	62
高脂肪食（HFD）				
パルミチン酸食(P-HFD)	MF 81g + パルミチン酸 19g	16	45	39
ラード食（L-HFD）	MF　77g + ラード18g + コーン油5g	15	50	35
オレイン酸食（O-HFD）	MF 77g + オレイン酸 23g	15	50	35

普通食群（ND）高脂肪食群（HFD）の各飼料配合割合と，右列は，P はタンパク質，F は脂質，C は炭水化物を示し，飼料の総エネルギーに占める各栄養素由来のエネルギーの割合を示す．

Table 2　各飼料の脂肪酸組成

飼料100g中		飽和脂肪酸（g）	一価不飽和脂肪酸（g）	多価不飽和脂肪酸（g）
普通食（ND）		1.5	1.9	0.8
高脂肪食	パルミチン酸食(P-HFD)	15.1	1.6	0.6
	ラード食（L-HFD）	8.9	10.6	4.7
	オレイン酸食（O-HFD）	1.1	24.4	0.6

飼料 100 g 中の飽和脂肪酸・一価不飽和脂肪酸・多価不飽和脂肪酸のおおよその含有量を示す．

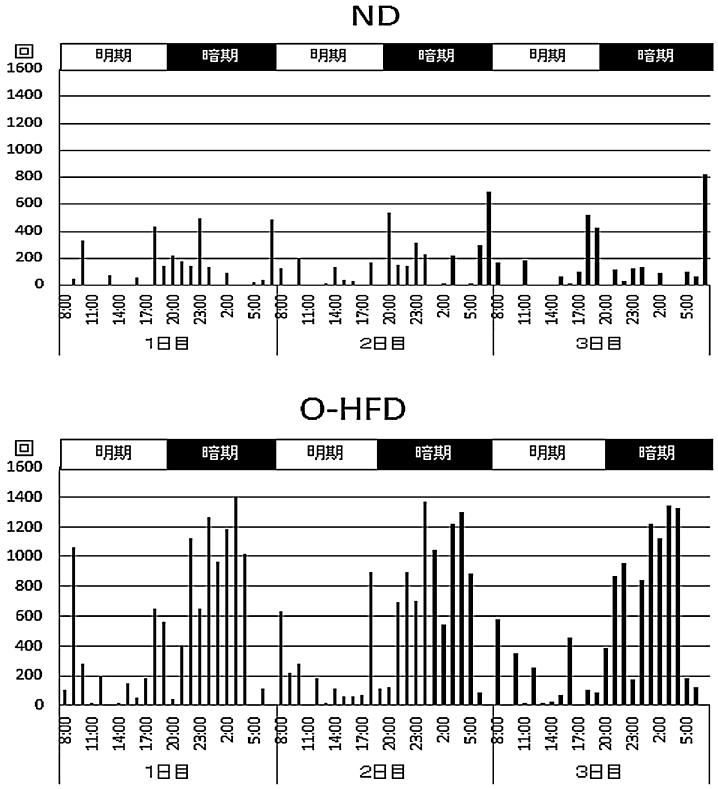

Fig. 1　ND マウス（上欄）と O-HFD マウス（下欄）の自発運動量　3 日間の比較例
縦軸は自発運動量（回）を示し，横軸は時間を示す.
上のバーは照明点灯を明（期），消灯を暗（期）である.
O-HFDマウスは暗期夜間に自発運動量が増加した.

量を継続して測定した．この赤外線センサーは震えや立ち上がり等のわずかな動きは反応せず，約 1.5 cm 動くと 1 カウントする特性がある．本研究は公立大学法人大阪府立大学動物実験規定に基づき実施した.

各群の自発運動量の統計的比較は，各群のマウスの 1 日平均運動量をもとに，Turkey-Kramer 法 Bonferroni/Dunn 法を用いて多重比較検定を行った.

3　結果

3.1　妊娠期の高脂肪食

妊娠期に普通食を与えた母親から生まれた仔マウスの群を ND 群，妊娠期に高脂肪食を与えた母親から生まれた仔マウスの群を HFD 群とし，O-HFD 群（オレイン酸食），P-HFD 群（パルミチン酸食），L-HFD 群（ラード食）の各仔の自発運動量を測定した.

Figure 1 は ND 群とオレイン酸食 O-HFD 群の 3 日間の自発運動量の一例である. O-HFD 群は明期と暗期と比べると特に夜間の暗期に自発運動量が増加した．図には示さないがラード食群（L-HFD）も同様夜間の運動量が増加した．マウスは夜行性であり，暗期に行動し，明期に睡眠をとるが，全ての群で睡眠覚醒リズムに関しては保たれていることが示唆された.

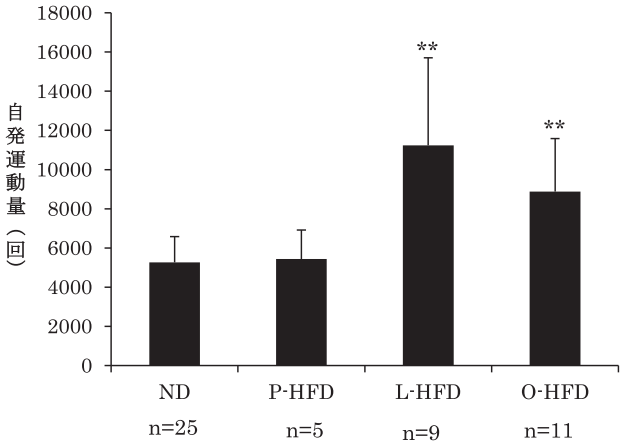

Fig. 2　各群の仔の1日あたりの自発運動量の平均値の比較
縦軸は自発運動量（回）を示す.各群の下欄は個体数を示す.
** L-HFD 群,O-HFD 群は ND 群と比較すると両群とも
1日平均自発運動量は有意（$p<0.01$）に高い.

3.2　脂肪酸組成による自発運動量の影響

出生 3 ～ 4 か月の ND 群，P-HFD 群，L-HFD 群，O-HFD 群の各マウスの数日間の自発運動量を測定し，1 日平均運動量を各群間で比較した（Figure 2）．結果は ND 群に対し L-HFD 群と O-HFD 群の自発運動量は両群とも有意に増加

していた．しかし P-HFD 群は ND 群と差は認められなかった．このことから，胎生６日～14日間にラードおよびオレイン酸を過剰摂取すると，生まれてきた仔の成熟時の自発運動量の増加を引き起こしていると考えられる．また妊娠期のパルミチン酸の過剰摂取は仔の自発運動量の増加に影響を与えないと考えられる．

４　考察

4.1　妊娠期の高脂肪食摂取

マウスの妊娠期間は約20日であり，胎生９日から脳の原基ができ．11日から神経細胞が発生し，14日から胎児の神経分化が活発になり，17日目頃には神経分化はほぼ完了するといわれている[4,14,15]. Chang らは 50% の高脂肪食（ラード食）を出産まで母親マウスに摂取させると，胎児の脳室周囲の視床下部となる神経細胞の分化が促進されたと報告している[6]．今回我々は Chang と同じように妊娠６日目から 50% の高脂肪食を母親マウスに食べさせた．さらに高脂肪という胎児環境の影響をより限局させる為，彼らより短く妊娠14日まで（妊娠中期と呼ぶ）にのみ高脂肪食を与えた．

結果は 50% 高脂肪食群のうちラード食群とオレイン酸食群とも成熟期の仔の自発運動量が増加したことから，妊娠中期の環境が影響したことが示唆される．おそらく胎盤を経由した脂肪成分が胎児の血液中に移動し，多量の脂肪に暴露された結果，胎児環境が変化し，神経分化に影響を与え，仔の成熟後の自発運動の大幅な増加を生じたと考えられる．

4.2　脂肪酸組成による違い

これまで我々は妊娠期の母親にラードを主成分とする 50% 高脂肪食を摂取させると生まれてきた仔の自発運動が増加するということを明らかにした[11].

ラード 100 g 中には脂肪酸が豊富で,飽和脂肪酸はおよそ 40 g（主にパルミチン酸 24 g）, 一価不飽和脂肪酸は 45 g（主にオレイン酸 41 g）, 多価不飽和脂肪酸 11 g が含まれている[13]．そこで本研究は飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸のうち，どの脂肪酸が自発運動量の増加を引き起こしているかを検討する目的で，飽和脂肪酸からはパルミチン酸を，一価不飽和脂肪酸からはオレイン酸を選んで餌の脂肪エネルギー比率が 50% になるよう調合し妊娠マウスに与えた結果，オレイン酸を主成分とする高脂肪食を母親が摂取すると仔の自発運動量が増加したことから，一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸の過剰摂取は仔に影響を与えると考えられる．一方，パルミチン酸添加の餌では自発運動量は増加しなかったことから，飽和脂肪酸であるパルミチン酸の過剰摂取による仔への影響は少ないと考えられる．ラードには 100 g 中多価不飽和脂肪酸が11 g含まれている．ラード食仔の自発運動量がオレイン酸食仔よりやや多いことより，今後多価不飽和脂肪酸例えばリノール酸食の検討も必要であろう．

これまで我々はマウスの妊娠期高脂肪食摂餌が仔の自発運動量の増加とオレキシン神経細胞数の増加を明らかにしてきた[12]．オレキシンにはノルアドレナリンやドーパミンなどのモノアミン系の神経細胞の活性化を持続的に高め, 覚醒を維持する機能がある[9,10]. 本研究結果により, 妊娠中期のオレイン酸，すなわち一価不飽和脂肪酸の過剰摂取によりオレキシン神経細胞の分化が促され，オレキシン神経細胞数が増加した結果，下流にあるモノアミン系の神経細胞が活性化され，仔マウスの自発運動量の増加を引き起こしたと示唆される．今後これらのマウスの脳内でカテコールアミン系やヒスタミン系等の神経細胞の変化の有無を詳細に検討していく必要がある．

本研究から母親のオレイン酸，すなわち一価不飽和脂肪酸の過剰摂取による母体環境の変化が仔の多動を引き起こすことが示唆された．マウスの妊娠中期はヒトでは胚子期前半にあたりおよそ妊娠２～４週に相当する．このことはヒトで妊娠早期の一価不飽和脂肪酸の過剰摂取が生まれてきた子で，例えば過活動などの病態を呈する注意欠陥多動性障害（ADHD）の発症に関与している可能性も考えられる．近年胎児期の母体内環境が胎児の肥満や代謝異常および脳の発達にも影響を及ぼすことが示唆されている[3]. たとえば低栄養，ウイルス感染は胎児期の微細な神経回路の形成障害により鬱等の疾患の発症に関係するといわれている[5]. また脂肪酸結合蛋白質７（Fabp7）が胎生期の脳の神経幹細胞に多く発現しこれに結合する多価不飽和脂肪酸（PUFA）が神経幹細胞の増殖に働くことが報告されている[5,15]．本研究結果より高脂肪が胎児期の胎生10日からの神経幹細胞の増殖時期に何らかの影響を与えたことが示唆される．

以上より子供の健康な精神発達には妊娠期の母親の栄養バランスの重要性があげられ，特に本研究より妊娠早期に不飽和脂肪酸を過剰に摂取しないように指導する必要があろう．

文献

1　厚生労働省（2010）日本人の食事摂取基準2010年版, pp.77-108.

2　厚生労働省（2013）平成23年国民健康・栄養調査の概要，pp.30.

3　板橋家頭夫（2011）胎児期からの生活習慣病対策，肥

満研究，17: 172-178.

4 久保田健夫（2010）胎児期環境と発達障害―生物学的メカニズムとしてのエピジェネティクス．医学のあゆみ，235: 843-843.

5 前川素子（2009）発達期（特に胎児期）の低栄養が精神発達に与える影響，日本医事新報，4441: 39-42.

6 Rimland B (1995) Is there an autism epidemic? Autism Research Review International. 9: 3.

7 ウイリアム・ショー（2011）自閉症と広汎性発達障害の生物学的治療法．コスモトゥーワン，pp.14-28.

8 Chang GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, and Leibowitz SF (2008) Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. J Neuroscience, 28: 12107-12119.

9 櫻井　武（2004）オレキシン．脳21, 7: 98-104.

10 櫻井　武（2007）オレキシンによる覚醒と睡眠の制御．蛋白質 核酸 酵素，52: 1840-1848.

11 Yamano M, Hayashi M, Senba E et al. (2012) Maternal high-fat diet causes hyperactivity in the offspring mice, Neuroscience Research Supplement 687, P2-j17.

12 Yamano M, Yotui C, Masuda K et al. (2010) Maternal high-fat diet causes neuronal numerical increase of the offspring mice hypothalamus. Neuroscience Research, 685: e399.

13 新食品成分表編集委員会（2012）新食品成分表 FOODS，東京法令出版，pp.192-193.

14 Altman J, Bayer SA (1995) Atlas of prenatal rat brain development. Boca Raton: CRC Press.

15 Bayer SA, Altman J (2007) Atlas of Human Central Nervous system development. Boca Raton: CRC Press.

16 Xu LZ, Sánchez R, Sali A and Heintz N (1996) Ligand Specificity of Brain Lipid-binding Protein. J Biol Chem, 271: 24711-24719.