

速 報

妊娠期高脂肪食は仔マウスに影響する

—オリーブ油の検討—

丹間瑞季, 菅 詩音, 山野眞利子[†]

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

受付: 2014年9月25日, 受理: 2014年11月5日

Maternal high-fat diet caused hyperactivity in the offspring of mice – olive oil study –

Mizuki TAMMA, Shion SUGA 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 25 September 2014; accepted 5 November 2014

Key words : maternal high-fat (妊娠期高脂肪食); fatty acid (脂肪酸); pups hyperactivity (仔マウス多動)

1 はじめに

日本では今や飽食の時代といわれ、食の多様化や欧米化により、高カロリー、高脂肪の食事傾向にある。近年、ファストフード店などの外食産業が発展し、多忙な現代人が手軽に高カロリー、高脂肪の食事を摂取しやすい食環境にある。

国民健康づくり運動として栄養素の目標摂取量を定める「健康日本21」では20～40歳の一泊あたりの平均脂肪エネルギー比率の目標値を25～30%以下と定めており¹、この値は妊婦においても同様に適応され、付加量は定められていない²。また平成24年の国民健康・栄養調査によると、日本人女性の一泊あたりの平均脂肪エネルギー比率は20～29歳が29.5%、30～39歳が28.2%とやや脂質過多の食事傾向にあることが分かる³。

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%の高脂肪餌を摂取させると、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、さらに、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⁴。

我々は、母マウスの妊娠中期(6～14日)に普通餌(脂質エネルギー比率12.8%)と比較してエネルギー比率50%の高

脂肪餌(ラード主)を与えた母マウス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したと報告した⁵。さらに、母マウスにパルミチン酸、オレイン酸を主成分とした高脂肪餌を与えた結果、パルミチン酸では仔の自発運動量は普通餌の仔と同程度であったが、オレイン酸を主とした高脂肪餌の仔でラード食と同様、自発運動の上昇が認められた⁵。

オレイン酸を多く含む食品にオリーブ油がある。オリーブ油100 g中の脂肪酸組成をみると飽和脂肪酸が13.29 g、一価不飽和脂肪酸が74.04 g、多価不飽和脂肪酸が7.24 gが含まれ、オレイン酸に代表される一価不飽和脂肪酸が多いことがわかる⁶。

これまでの我々の研究では、不飽和脂肪酸が仔マウスの自発運動量増加に影響を与えていることが示唆されている⁵。本研究では、一価不飽和脂肪酸を多く含み、かつヒトが普段摂取する身近な食品であるオリーブ油を用い、これを神経細胞の発生時期にあたる妊娠中期(6～14日)の母マウスに与え、生まれた仔の成熟後の自発運動量にどのような影響を与えるか検討した。

2 方法

妊娠1日目のICRマウス(日本SLC株式会社)を普通餌群(n=2)、高脂肪餌群(n=3)に分け、妊娠1日目から5日目までは普通食餌(MF:全エネルギー中、脂質12.8%

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

Table 1 各飼料の PFC エネルギー比率と脂肪酸組成 (100 g 中)

飼料 100g 中	エネルギー比率			脂肪酸組成		
	P	F	C	飽和	一価不飽和	多価不飽和
	(%)	(%)	(%)	脂肪酸	脂肪酸	脂肪酸
				(g)	(g)	(g)
普通食 (ND)	25	13	62	1.5	1.9	0.8
高脂肪 ラード	15	50	35	8.9	10.6	4.7
餌 オレイン酸	15	50	35	1.1	24.4	0.6
(HFD) オリーブ油	15	50	35	4.0	17.7	3.0

表中の P はたんぱく質, F は脂質, C は炭水化物を示す. 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したものが PFC のエネルギー比率である. 右欄は各餌 100 g 中に含まれる飽和脂肪酸, 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.

kcal, オリエンタル酵母) を与え, 普通餌群 (n = 2) は継続して MF を与えた. 脂肪餌群は妊娠 6 日目から 14 日目まで摂取エネルギーの 50% が脂質になるように, 餌 100 g 中に MF 77.3 g, オリーブ油 (酸化度 1.0% 以下, 味の素オリーブオイルエクストラバージン) 22.7 g を加えた餌を与えた. この高脂肪餌については週 2 回作成し与えた. 妊娠 14 日以降は再び普通餌にかえ, 出産後も両群とも継続して普通餌を与えた. 生後 3 週目に親マウスから仔マウスを離し, 同腹仔のオスを集団で飼育した. 離乳後の仔マウスも全群とも普通餌を与えた. Table 1 に上記の普通餌とオリーブ油とこれまで実施したラード, オレイン酸を含む高脂肪餌の脂肪酸含有量を示す.

動物飼育方法は飼料及び水は自由摂取とし, 飼育は室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 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.

出生後 2 ~ 3 か月に各群から仔マウスをランダムに選択し, 個別ケージに移動させ, 自由に飲食ができる状態で, 約 1 週間各マウスの自発運動量を継続して測定した. 測定には, 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) を用いた. この赤外線センサーはグルーミングや立ち上がり等には反応せず, 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 (承認番号: 動物実験 25-6) に基づき実施した.

3 結果

本研究では, 一価不飽和脂肪酸のオレイン酸含有量が全脂肪重量 70% 以上あり, かつ我々が身近に利用しているオリーブ油を妊娠期のマウスに摂取させ, 生まれた仔の自発運動量についてオリーブ油の影響を検討した.

妊娠期に普通餌を与えた母親から生まれた仔マウスの

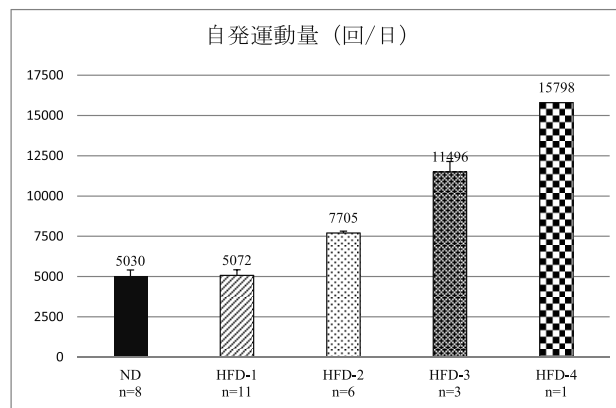


Fig. 1 各群の一日あたりの自発運動量の平均値の比較

縦軸は自発運動量 (回) を示し, 各群の下欄は個体数 (n) を示す. 自発運動量から HFD を ND 群とほぼ変わらない自発運動量を示す HFD-1 群, 一日あたりの自発運動量が 7,000 回を超える HFD-2 群, 10,000 回を超える HFD-3 群, 15,000 回を超える HFD-4 群に分類した.

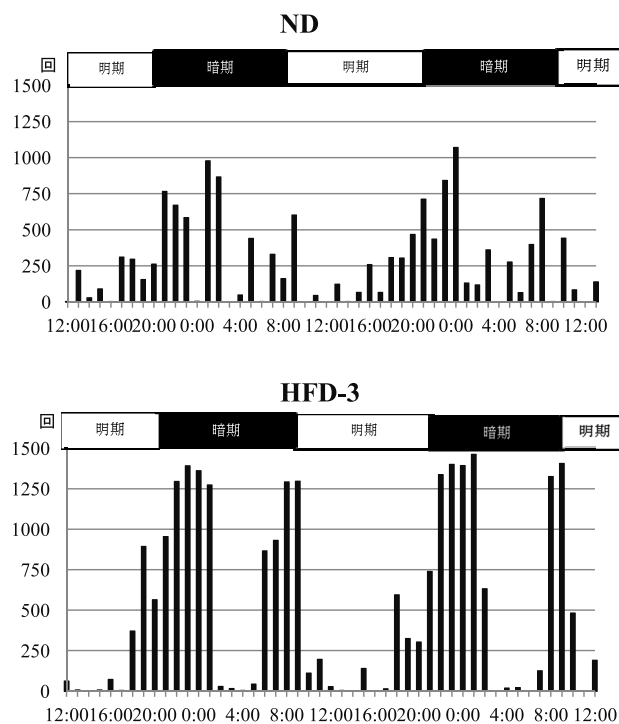


Fig. 2 ND 群マウス, HFD-3 群マウス 1 例の自発運動量 (2 日間の比較)

縦軸は自発運動量 (回) を示し, 横軸は時刻を示す. 上のバーは照明点灯の明期, 消灯の暗期を示す.

群を ND 群 (n = 8), 妊娠期に高脂肪餌を与えた母親から生まれた仔マウスの群を HFD 群 (n = 21) とし, 各仔の自発運動量を測定した.

ND 群の一日の自発運動量は平均 5,030 回であった. 一方 HFD 群の自発運動量は約 50% (11 匹) は ND 群とほぼ変わらない平均一日 5,072 回であった. しかし HFD 群の残りの

10匹は一日あたりの自発運動量がND群より多く、そのうち6匹が平均7,705回、4匹が平均11,496回、さらに1匹は15,798回と高い自発運動量を示した。

HFD群をND群とほぼ変わらない運動量を示したHFD-1群、一日あたりの平均運動量が7,000回を超えるHFD-2群、10,000回以上の値を示し多動の傾向がみられたHFD-3群、15,000回を超える超多動の傾向がみられたHFD-4群に分類し、各分類マウスの自発運動量平均をFig. 1とする。

ND群とHFD-3群のマウス各1例の2日間の時刻経過を追った自発運動量のグラフをFig. 2に示す。マウスは夜行性動物であり、暗期に行動し明期に睡眠をとるが、両群とも明期の運動量は少なく、暗期に運動量が多く認められたことより、睡眠覚醒のリズムは保たれていると思われる。またFig. 2と同様、運動量の多いHFD-2, 3, 4群の各マウスの時刻経過を追った自発運動量はいずれも暗期の活動期における運動量が増加していた。

4 考察

4.1 オリーブ油の運動量への影響

我々は、マウスの妊娠期高脂肪食摂取が仔の自発運動量の増加を引き起こすことを明らかにし、また一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸の過剰摂取が自発運動量の増加を引き起こすことも示唆した⁵。今回オレイン酸を豊富に含むオリーブ油を添加した高脂肪餌を摂取した母親マウスの仔のうち自発運動量が増加したマウスは、一価不飽和脂肪酸の過剰摂取により神経分化に影響し、自発運動量の増加につながったと考えられる。

一方、自発運動量がND群とほぼ変わらない値を示したマウスも約半数いた。これは、オリーブ油に含まれるオレイン酸以外の物質である、ポリフェノールなどの抗酸化物質やビタミンAなどの微量栄養素^{7,8}が多動の出現を抑制した可能性が考えられる。

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た⁴。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も報告している⁴。オレキシン神経細胞は脳の視床下部外側野に局限しており⁹、オレキシン終末はアセチルコリン、ノルアドレナリン、セロトニン、ドーパミン、ヒスタミンニューロンにシナプスし、生体の活動を亢進させることも知られている⁹。また、オレキシンのニューロン群は広く大脳皮質に投射し、食行動を刺激することが知られている¹⁰。今後ND群とほぼ同じ

自発運動量を示したマウスと、多動を示したマウスのオレキシン神経細胞数の違いを調べ、自発運動量が増加したマウスにおいて神経細胞数が増加していることを確認する必要がある。

4.2 妊娠中期の高脂肪食摂取による影響

HFD群にのみ、自発運動量が増加したマウスが現れたことから、自発運動量の増加は妊娠中期の栄養環境が影響したことが示唆される。マウスは妊娠9日目から胎児の脳の原基ができ、11日目から神経細胞が発生し、14日目から胎児の神経分化は活発になり、17日目頃に神経分化はほぼ完了し、約20日目に出産するといわれている¹¹。胎児の神経分化の時期に母マウスが多量に摂取した脂肪成分は、胎盤を経て胎児の血液中に中性脂肪として移動するが¹²、その結果胎内環境が変化し、神経分化に影響を与えて仔の成熟後の自発運動量が変化したと考えられる。

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¹³。エピジェネティクスは高等真核生物では胚発生・分化のためにはならない機構であり、これが破たんすると胎生致死となる¹⁴。同時に、成体でも組織幹細胞や分化のためにはならない機構であり、この異常によって重要な遺伝子が低転写になり、その遺伝子の不可逆的な発現低下により精神疾患、神経変性疾患などの様々な疾患が発症する可能性が強く示唆されている¹⁵。さらに、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¹⁵、栄養状態をはじめとした、母体内での環境が胎児期の脳の発達に影響を与えている可能性が示唆される。近年、広汎性発達障害（自閉症など）、学習障害（LD）、注意欠陥性多動障害（ADHD）などの発達障害を持つ患者が増えているが^{16,17}、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。

本研究から、母マウスの妊娠中期オリーブ油過剰摂取により、一部の仔に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、ヒトでは胚子期の前半、およそ妊娠2～4週間にあたる。このことは、ヒトで妊娠早期のオリーブ油の過剰摂取で生まれてきた仔が、過活動などを呈するADHDの発症に関与している可能性も考えられ、また多動がみられたマウスは、ヒトのADHDのモデル動物となる可能性があると考えられる。

約50%の仔マウスにおいて自発運動量に変化はみられなかったが、一日あたりの自発運動量の平均値が10,000回を超えた多動のマウスが約20%の割合で出現し、うち1匹は普通食を摂取した母マウスから生まれた仔の3倍以上の

運動量である超多動の傾向を示したことから、妊娠期の母体内環境が胎児の脳の発達に影響を与えた可能性が示唆されるので、妊娠期の過剰なオリーブ油摂取は控えることが望ましいと考えられる。

本研究の結果は、子供の健康な脳の発達には、妊娠期の母親の栄養バランスが重要であり、近年健康食品とされるオリーブ油であるが、過剰な摂取を行わないように母親に指導する必要性も示唆され、今後ヒトでの研究が待たれる。

文献

- 1 厚生労働省 (2009) 日本人の食事摂取基準2010年版, 第一出版, 東京, pp.77-108.
- 2 田中平三 (2009) 臨床栄養: 別冊日本人の食事摂取基準 (2010年版) 完全ガイド, 医歯薬出版, 東京, p.99.
- 3 厚生労働省健康局 (2014) 平成24年国民健康・栄養調査の結果の概要, p.30.
- 4 Chang GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, 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.
- 5 Yamano M, Kurose Y, Sawai A (2013) Maternal high-fat diet caused hyperactivity in the offspring mice - study of fatty acid composition. *J Life Science Research*, 11: 2186-5809.
- 6 鈴木一行 (2011) 食品解説つき新ビジュアル食品成分表, 新訂版, 大修館書店, 東京, pp.198-199.
- 7 Visioli F, Galli C (1998) The Effect of Minor Constituents of Olive Oil on Cardiovascular Disease: New Findings. *Nutrition Reviews*, 56: 142-147.
- 8 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, 東京, pp.192-193.
- 9 櫻井武 (2009) オレキシン, 脳21, 7: 98-104.
- 10 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.
- 11 Hill M (2014) Mouse Timeline Detailed “Embryology” online book. <<https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index>>. [accessed 2 September 2014]
- 12 Odaka Y, Nakano M, Tanaka T, Sato K, et.al. (2010) The influence of a high-fat dietary environment in the fetal period on postnatal metabolic and immune function. *Obesity*, 18: 1688-1694.
- 13 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: 840-843.
- 14 牛島俊和 (2010) エピジェネティクスと疾患. 実験医学増刊, 28: 18-25.
- 15 Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2007) “Neuroscience: Exploring the Brain”, [加藤宏司, 後藤薫, 藤井聡, 山崎良彦他訳 (2007) “神経科学—脳の探求—” 西村書店, 東京, pp.515-534.]
- 16 Rimland B (1995) Is there an autism epidemic? *Autism Research Review International*, 9: 3.
- 17 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, 東京, pp.14-28.