

## トランス脂肪酸を含むマーガリンがラットの攻撃行動や血液と肝臓の脂質プロファイルに及ぼす影響

坂井 恵子, 向原 花織, 猿渡 静香

### 要 約

トランス脂肪酸の過剰摂取リスクはLDL-コレステロールの上昇やHDL-コレステロールの低下などにより心疾患発症の可能性が示唆されている。しかし、トランス脂肪酸と行動との関係についてはいまだ明らかでない。

本研究の目的は、マーガリンがラットの攻撃・不安行動および体内の脂質プロファイルに及ぼす影響について、n-9系・n-6系、n-3系脂肪酸摂取との比較検討を行った。更に、実験飼料とストレス環境による影響についても検討を行った。

方法は4週齢のSprague-Dawley系雌ラットを無作為に実験飼料で4群に分け、さらに各実験飼料群は飼育環境をコントロールとストレスで行い11週間飼育した。

実験食による体重変化は、ストレスの有無に関わらず魚油群の増加が最も著しく、マーガリン群が最も低かった。攻撃行動ではコントロールの場合、各群間に顕著な差は認められなかった。対照的にストレスの場合、マーガリン群はn-9系やn-6系脂肪酸群に比べて攻撃性が有意に低いのが認められた。不安行動では、マーガリン群のストレスの有無に関わらず不安を感じていない行動が他の食餌群に比較して顕著にみられた。対照的に不安を敏感に感じ安定性を好んだのがn-9系のオリーブ油群であった。

総コレステロールは、n-3系脂肪酸群が低かったが、マーガリン群はn-9系やn-6系脂肪酸群と同じ傾向であった。一方、トリアシルグリセロールはストレスの場合、全食餌群でコントロールに比べて上昇した。

**キーワード：**トランス脂肪酸、マーガリン、攻撃行動、不安行動、ストレス

### 緒 言

トランス脂肪酸には、多価不飽和脂肪酸を人工的に部分水素添加し一価不飽和脂肪酸の割合を増加する際に生じるエライジン酸C18-t9と、天然に微生物由来の酵素によって反芻動物の胃内で生じるバクセン酸C18:1-t11があるが、現在過剰摂取による害が危惧されているのは前者の方である<sup>1)</sup>。日常の食生活で摂食するトランス脂肪酸はマーガリン、ショートニング、ファーストフードなどが主な供給源である。さらに近年、リノール酸過剰摂取の害が明らかとなり植物油の化学的水素添加による一価不飽和脂肪酸化が急速に行われ市場に出回っている。トランス脂肪酸のヒトの健康に及ぼす影響として、LDL-コレステロールの上昇<sup>2,3)</sup>、HDL-コレステロールの減少<sup>4)</sup>などから動脈硬化・心疾患<sup>5,6)</sup>、インスリンレジスタンス<sup>7)</sup>による糖尿病、TNF- $\alpha$ およびIL-6の上昇より炎症<sup>8,9)</sup>などの発症と関係を持っていることが示唆されており、過剰摂取に対して注意が喚起されている。

しかし、長期の過剰摂取の影響については不明である。既に、イギリス、オーストリア、カナダ、スイス、アイスランド、韓国、アメリカの一部の州等では人工のトランス脂肪酸摂取制限に向けて取り組みが進んでいる<sup>10)</sup>。

ところで、工業的に水素添加されたトランス脂肪酸と行動との関係については、ヒトでの疫学調査で攻撃性や短気/過敏性を引き起こす可能性が報告されている<sup>11)</sup>。しかし、ヒトの場合は多くの因子が複雑に絡みあっている可能性があると考えられるので詳細は明らかでない面が多い。

本研究では、動物実験によりマーガリン摂取が攻撃行動と不安行動に及ぼす影響について、n-9系、n-3系、n-6系脂肪酸摂取との比較検討を行った。

### 方 法

実験動物：Sprague-Dawley系雌ラット(SLC, 静岡)の4週齢を無作為に4群に分け、実験飼料(Table 1)にて11週間飼育を行った。また、ラットの飼育を実験の全期間、木片チップ床のプラスチックケージで行った

場合をコントロール、全面が金網ケージで行った場合をストレスと称した。体重は週に1回測定を行った。飼育は室温 25 度°C, 12 時間明暗周期で行った。

実験飼料：脂質としてオリーブ油 (WAKO), コーンオイル (WAKO), 魚油 (Carlson, Norway), えごま油 (朝日 ST 株), マーガリン (Topvalu) を使用し, その他の成分：澱粉 (日本澱粉株), sucrose (WAKO), casein (WAKO), cellulose (ナカライ株), mineral mix (AIN-93G), vitaminmix (AIN-93), choline (WAKO), は各群ともすべて同じであった。(Table 1) 糖質は 55.7en%, たんぱく質は 18.9en%. 脂質

Table 1. Experimental Diet (g/100g)

oil	olive (n-9)	corn (n-6)	fish (n-3)	margarine (trans)
corn starch	49	49	49	49
sucrose	10	10	10	10
casein	20	20	20	20
cellulose	4.25	4.25	4.25	4.25
mineral mix	3.5	3.5	3.5	3.5
vitamin mix	1	1	1	1
choline	0.25	0.25	0.25	0.25
olive oil	12			
corn oil		12		
fish/egoma oil			12	
margarine				12

は 25.5en% で行った。実験飼料は各群とも毎日同量を投与し, 翌日残量を測定して摂取量を記録した。水は自由摂取とした。

攻撃行動実験：実験飼料で飼育開始 3 週目より最終週まで既報<sup>12)</sup>の方法で, 1 週間に 1 回行った。対戦時間は 3 分間とし, 先に筒から出た方を負けとして行った。不安行動実験：既報<sup>12)</sup>と同じ高架式十字迷路試験を用いて行った。実験時間は 3 分間とし, 床から 60cm の高さで壁のない open arm 領域と両側に壁のある closed arm 領域での滞在時間, 立ち上がり回数, 毛づくろい, 髭の動きなどの行動を観察・記録をした。

生化学的測定：行動実験終了後, ラットはネブターで麻酔後, 心臓採血, 肝臓を摘出し, - 80°C で測定するまで保存した。測定は WAKO の測定キットを会社のプロトコールに従って行った。

尚, 本報の動物実験は鹿児島純心女子大学動物実験指針に従って行った。

## 結 果

1. 体重変動：実験飼料で 11 週間飼育した場合, コントロールで体重増加量は魚油群が最も多く, マーガリン群が最も少なかった。(Fig. 1) 一方, 体重 1g

増加するのに必要な餌の摂取量はマーガリン群の方が, コーンオイル群や魚油群に比べて有意に多く必要とした。

2. 攻撃行動：コントロールの攻撃性はコーン油群 (n-6 系) > オリーブ油群 (n-9 系) > 魚油群 (n-3 系) > マーガリン群 (トランス) の順に低くなったが, 各群間に有意な差は認められなかった。(Fig. 2)。

対照的に, ストレスの攻撃性では魚油群とマーガリン群がオリーブ油群とコーンオイル群より弱く, 特にマーガリン群の攻撃性の低下が顕著であった。マーガリン群の負けの内容は粘り強く戦う意志の喪失のためであった。(Fig. 3) ストレスの攻撃行動での勝ち方をみると, オリーブ油群は相手のあきらめによって得たものが約 8 割であり, 対照的にマーガリン群の最も少ない勝利の内容は自らの攻撃によって得たものであった (Fig. 3)。

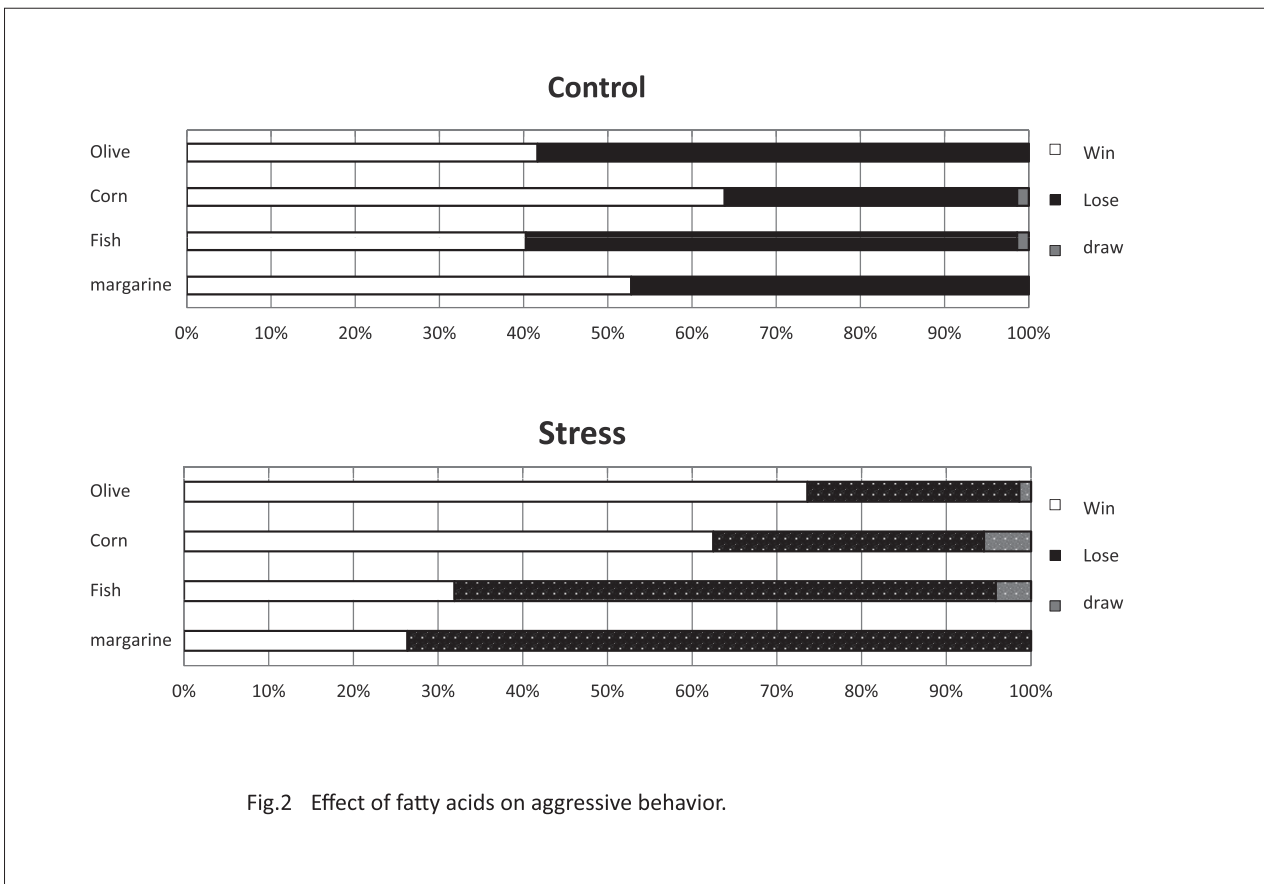
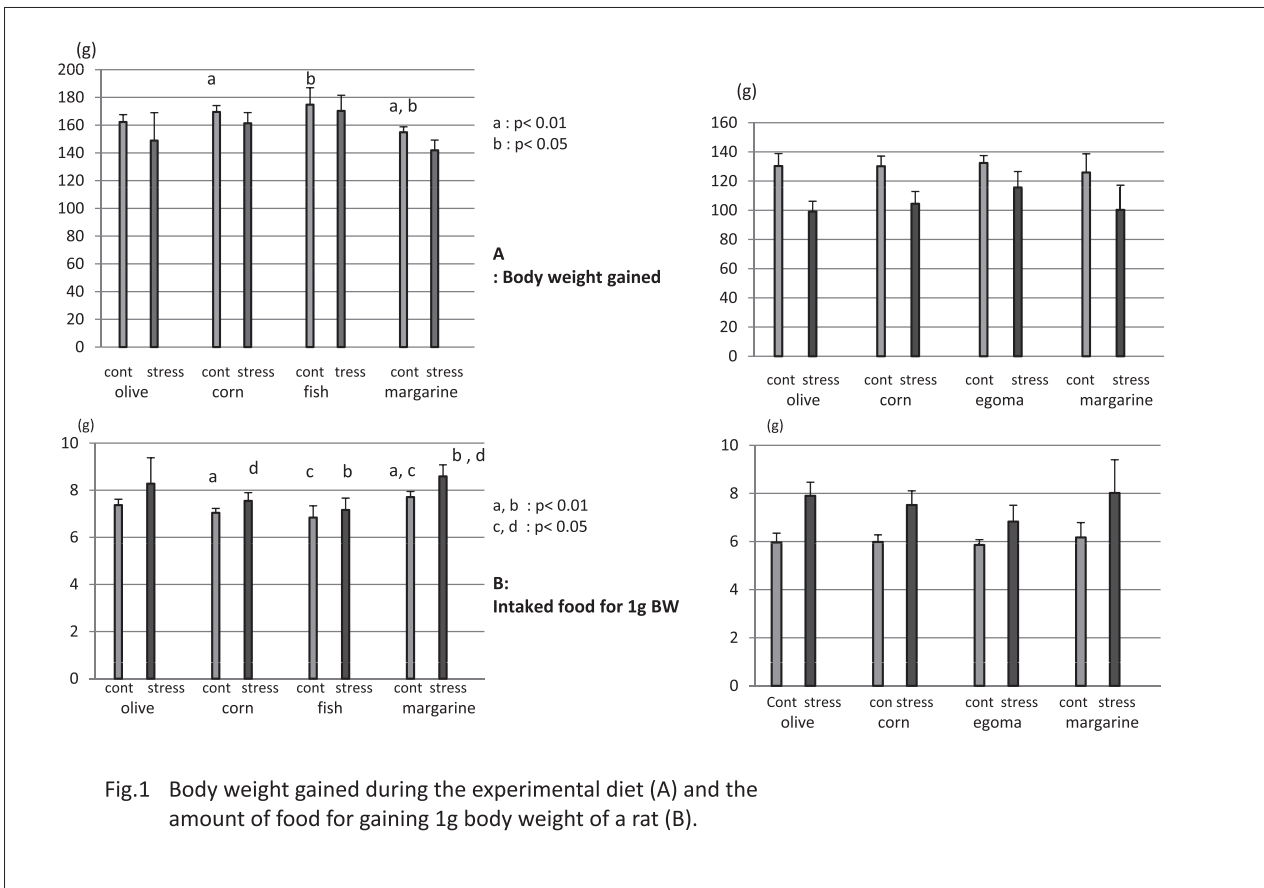
3. 不安行動：オープンアーム領域での滞在時間をみると, コントロールおよびストレスともにオリーブ油群が最も短いのが認められた。一方, 末端領域に滞在したのはマーガリン群でコントロールおよびストレスで顕著に認められた (Fig. 4)。

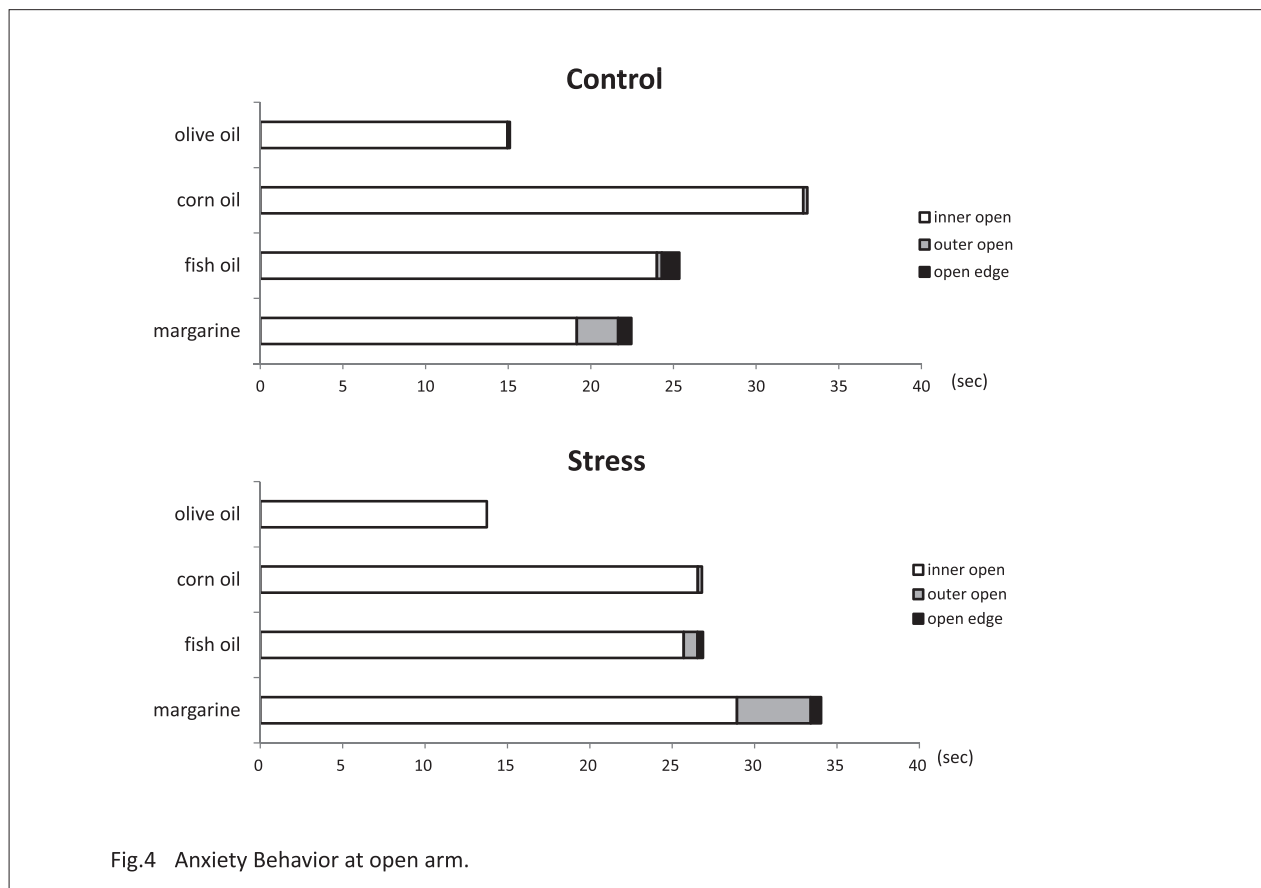
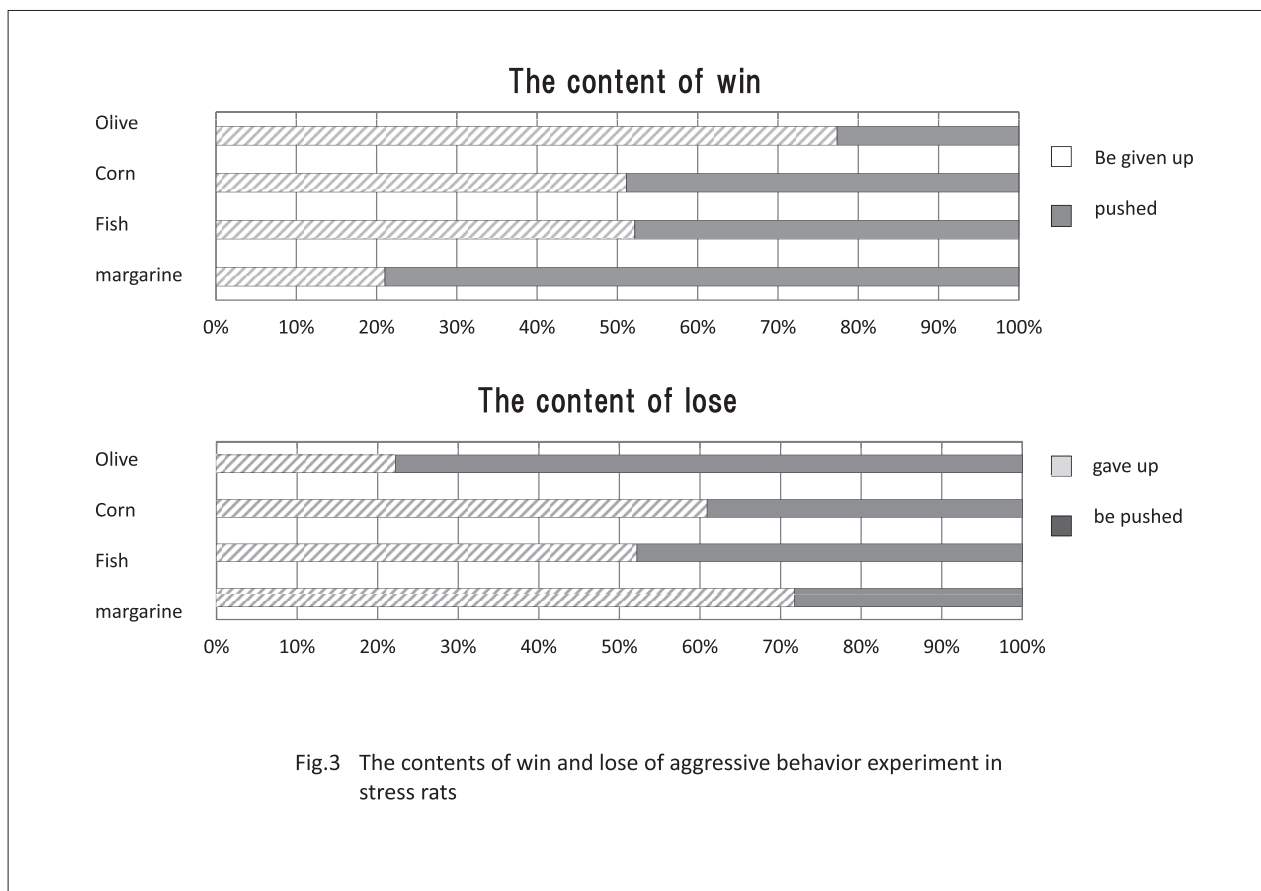
次に“立ち上がり”行動はクロースドアームでコントロールでは魚油群, ストレスではマーガリン群に有意に多く見られた (Fig. 5)。“毛づくろい”行動はクロースドアームでみられ, コントロールではマーガリン群が有意に少なかった。一方, ストレスではコーン油群が最も少なかった。オリーブ油群は魚油群, マーガリン群, コーン油群より有意に著しく多いのが認められた (Fig. 6)。マーガリン群だけオープンアームで毛づくろいしていたのが特徴であった (DATA NOT SHOWN)。

4. 総コレステロール量：血漿では n-3 系のエゴマ油群と魚油群が他のオリーブ油・コーンオイル群・マーガリン群に比べてストレスの有無に関わらず有意に低いのが認められた。(Fig. 7) 一方, 肝臓では, ストレスの場合全ての食餌群で総コレステロール量の増加が認められた。また, 魚油群ではストレスの有無に関わらず総コレステロール量は他の群に比べて有意に高いのが認められた。(Fig. 7)

5. トリアシルグリセロール量：マーガリン群は血漿と肝臓ともに n-6 系と同じ傾向であった。(Fig. 8) 血漿では, オリーブオイル群が他の食餌群に比べて有意に高く, 肝臓では魚油群が他の食餌群に比べて有意に高いのが認められた。

6. HDL-コレステロール：マーガリン群は n-9 系, n-6 系と同様な傾向を示した。(Fig. 9)





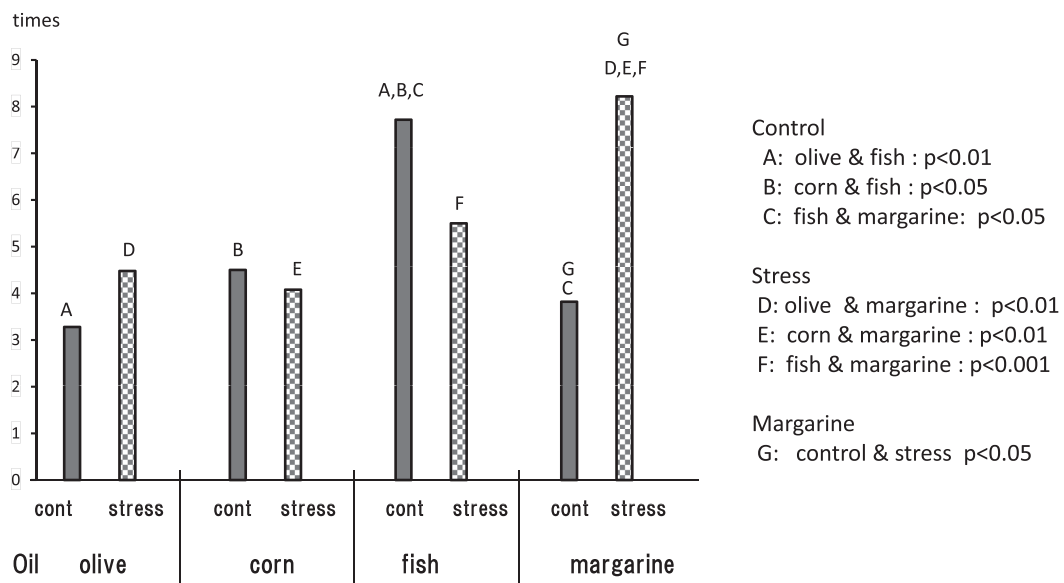


Fig.5 The numbers of "stand up" of rats at closed arm area in the anxiety behavior experiment.

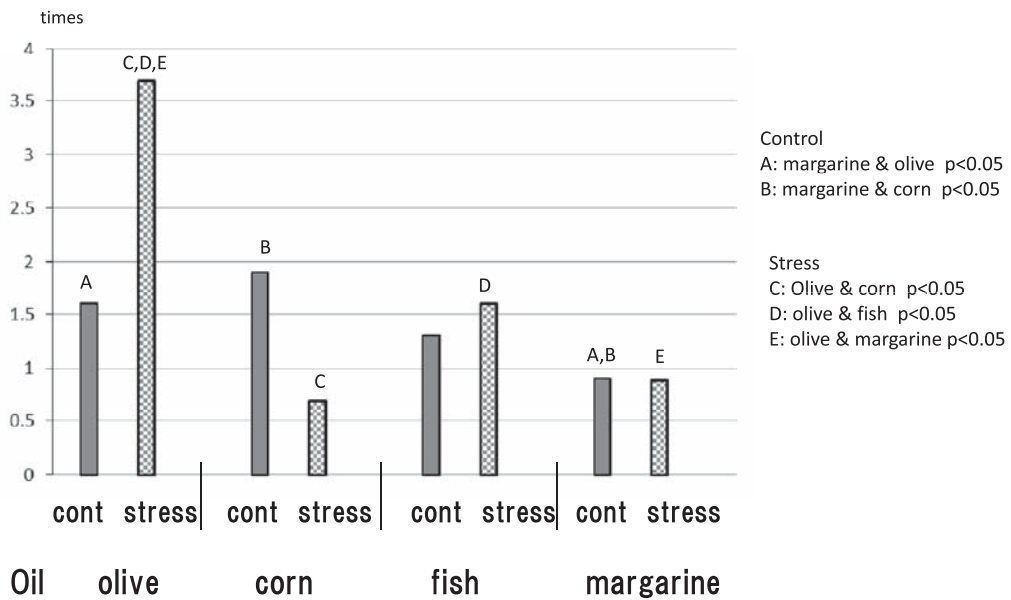
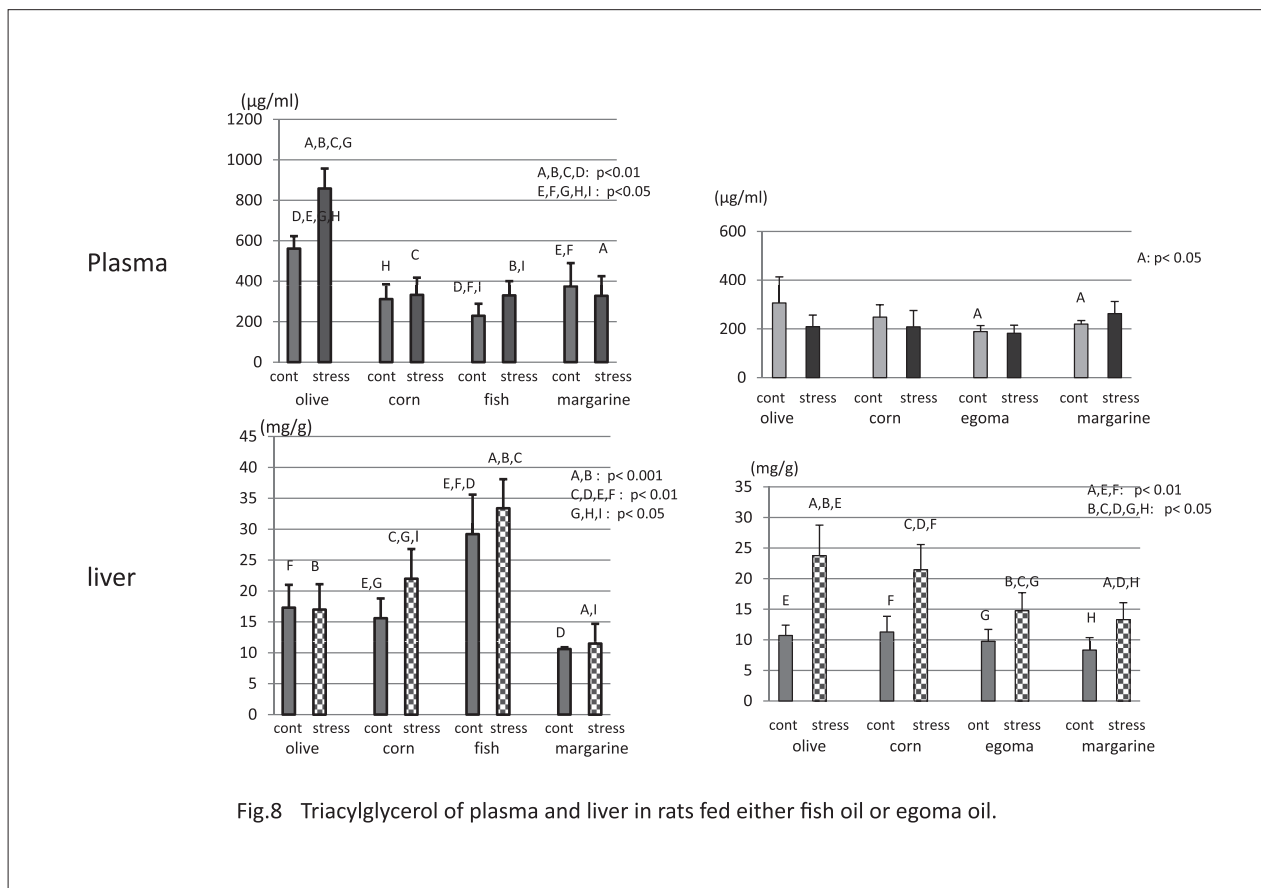
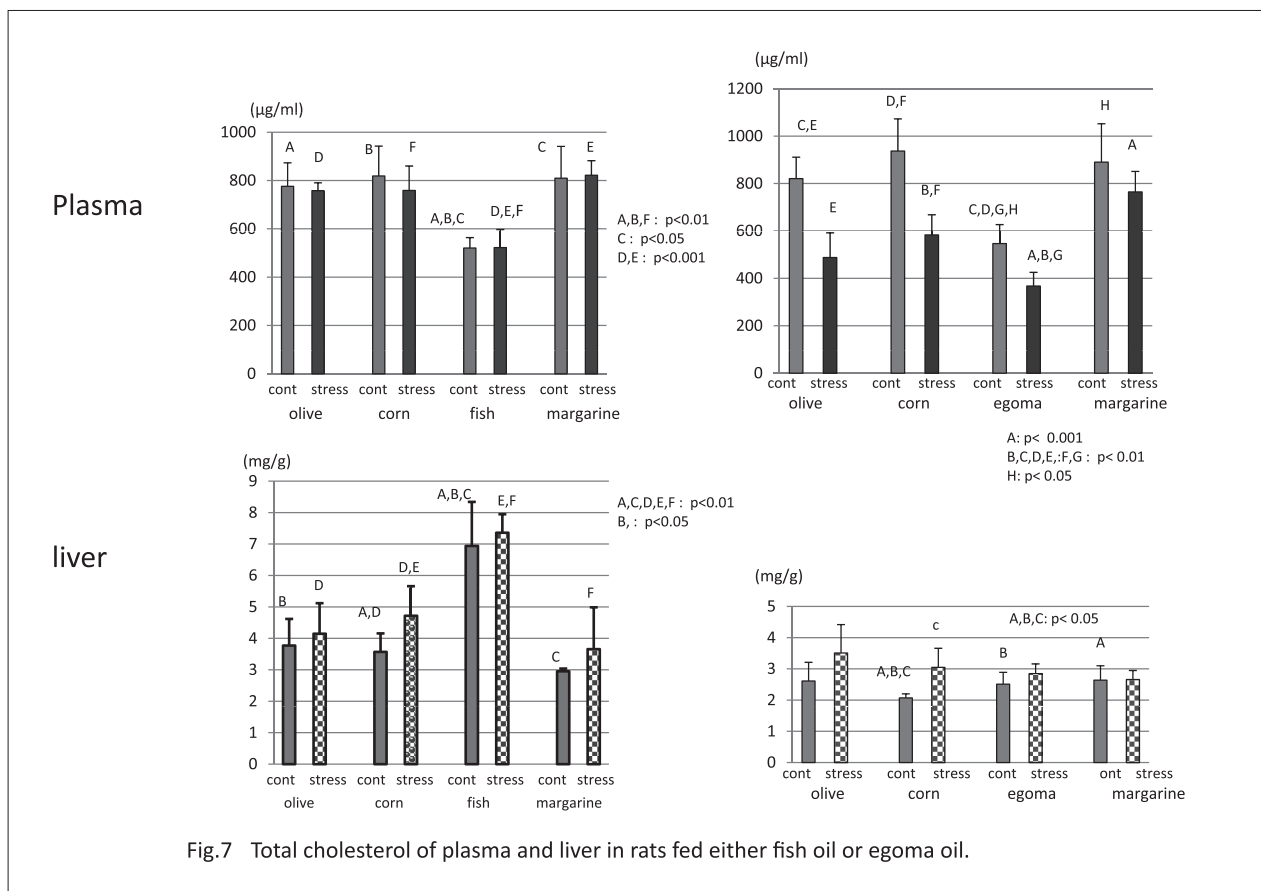


Fig.6 The numbers of 'grooming' at closed arm in anxiety behavior experiment.



### 考 察

不安行動においてマーガリン群が最も open arm の末端へ出現する傾向がみられた。これは、マーガリン群は open arm で毛づくろいをした唯一の食餌群だったので、不安感覚が低いと推察された。対照的に、オリーブ油群は open arm へ出たがらず、closed arm の領域で毛づくろいや立ち上がりなどラットの平常時の行動をしていたことから、危険を避け、安全な状況を好む傾向と推察された。また、コーンオイル群と魚油群はマーガリン群とオリーブ油群の中間的傾向であることが示された。Golomb 等<sup>13)</sup>はヒトでトランス脂肪酸摂取は攻撃性と関連性があったと報告したが、複雑なヒトの条件でのデータであるので未解明の部分がみられる。本研究で使用したマーガリンはベニバナ由来のものであり、血液と肝臓の性状では n-6 系とよく似た結果であったが、水素添加処理の影響が攻撃行動や不安行動に現れたことは興味深い。

一方、血液や肝臓をみると、マーガリンは総コレステロール量、トリアシルグリセロール量、HDL-コレステロール量は n-9、n-3、n-6 系と同様な傾向を示した。トランス脂肪酸の過剰摂取では、非アルコール性脂肪肝を起こすことが示唆されているが<sup>14)</sup> 本実験でマーガリン群で脂肪肝はみられなかった。これは、使用したマーガ

リンは過剰投与ではないこと、そして、トランス脂肪酸の含量が少なかったと考えられる。近年、スペインではベーカリー製品にトランス脂肪酸含量が少なくなってきた<sup>15)</sup> ように日本でも食品製造において、トランス脂肪酸生成を減少させる改善がすすんでいる。

また、n-3 系脂肪酸を含む魚油とエゴマ油の比較では、血液中の総コレステロール量やトリアシルグリセロール量は他に比べれば有意に低かった。しかし、肝臓ではエゴマ油の場合は低かったが、魚油摂取で総コレステロールが著しく増加し脂肪肝を呈したので、摂取に当たっては注意する必要性が示唆された。

トランス脂肪酸の摂取量が総エネルギー量の 2% 以上になると心疾患だけではなく糖尿病や前立腺癌の危険性の増加が示唆されている<sup>16)</sup>。そこで、WHO など国際機関はトランス脂肪酸の摂取量を 1% 以下にするように推奨している。欧米の先進国の中でフランス以外はトランス脂肪酸に関して健康面からの取り組みが進んでいるが<sup>17)</sup>、日本ではトランス脂肪酸に関して含量の制限、摂取予防に対して十分な対策が取られていない現状があるので過剰摂取に注意を喚起したい。

### 結 論

市販のマーガリン摂取が行動に及ぼす影響について n-9 系、n-6 系、n-3 系脂肪酸との比較検討を行っ

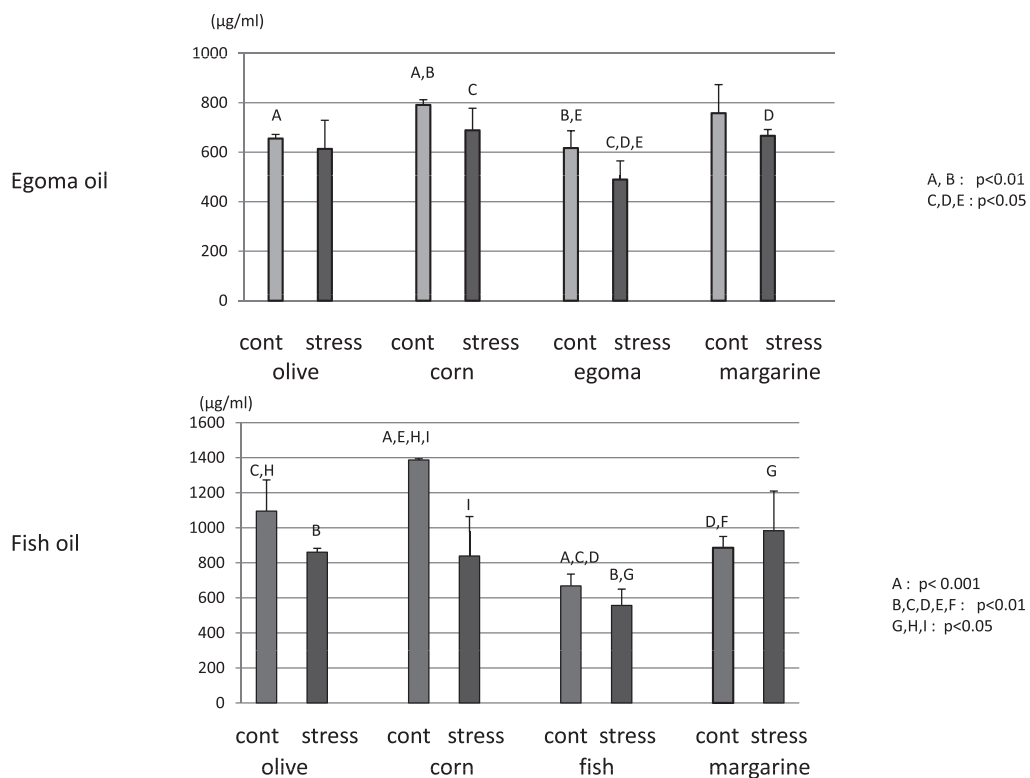


Fig.9 HDL-cholesterol of plasma in rats fed experimental diets.

た結果、血液や肝臓の総コレステロール、トリアシルグリセロールやHDL-コレステロールに異常は認められなかった。しかし、不安行動や攻撃行動においては他の食餌群とは異なった行動が認められた。本研究によってトランス脂肪酸の過剰摂取ではないにも関わらず、行動に影響を及ぼす可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Kuhnt K, Baehr M, Rohrer C, Jahreis G: Trans fatty acid isomers and the trans-9/trans-11 index in fat containing foods. *Eur J Lipid Sci Technol.* 113 (10) :1281-1292, 2011
- 2) Mensink RP, Katan MB: Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med.* 323:439-445, 1990
- 3) Mozaffarian D, Aro A, Willett WC: Health effects of trans-fatty acids. *Eur J Clin Nutr.* 63 Suppl2:S5-21, 2009
- 4) Sundram K, Karupaiah T, Hayes K.: Stearic acid-rich interesterified fat and trans-rich fat raise the LDL/HDL ratio and plasma glucose relative to palm olein in humans. *Nutr Metab.* 4:3 (2007)
- 5) Mozaffarian D, Rimm EB, King IB, et al.: trans fatty acids and systemic inflammation in heart failure. *Am J Clin Nutr.* 80:1521-1525, 2004
- 6) Dyerberg J, Christensen JH, Eskesen D, et al.: Trans and n-3 polyunsaturated fatty acids and vascular function—a yin yang situation. *Atheroscler Suppl* 7:33-35, 2006
- 7) Ibrahim A, Natrajan S, Ghafoorunissa R.: Dietary trans-fatty acids alter adipocyte plasma membrane fatty acid composition and insulin sensitivity in rats. *Metabolism* 54:240-246, 2005
- 8) Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, et al.: Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr.* 79:606-612, 2004
- 9) Bendtsen NT, Stender S, Szece PB, et al.: Effect of industrially produced trans fat on markers of systemic inflammation. *J Lipid Res.* 52:1821-1828, 2011
- 10) Ballesteros-Vasquez MN, Valenzuela-Calvillo LS, et al.: Trans fatty acids: consumption effect on human health and regulation challenges. *Nutr Hosp.* 27:54-64, 2012
- 11) Golomb BA, Evans MA, White HL, Dimsdale JE.: Trans fat consumption and aggression. *PLoS One.* 7:e32175, 2012
- 12) 坂井恵子, 中尾礼奈, 須崎はるか: 大豆たんぱく質とオリーブオイルおよびエゴマ油がストレス負荷ラットの攻撃性に及ぼす影響. 鹿児島純心女子大学看護栄養学部紀要 16:7-12, 2012
- 13) Obara N, Fukushima K, Ueno Y, et al.: Possible involvement and the mechanisms of excess trans-fatty acid consumption in severe NAFLD in mice. *J Hepatol.* 53:326-334. 2010
- 14) Ansorena D, Echarte A, Olle R, Astiasaran I, No trans fatty acids in Spanish bakery products. *Food Chem.* 138:422-429, 2013
- 15) Chavarro JE, Stampfer MJ, Campos H, et al. A Prospective study of trans-fatty acid levels in blood and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 17:95-101, 2008



## Effect of Margarine / Trans Fatty Acid on Aggression and Anxiety Behavior of Rats

Keiko Sakai, Kaori Mukohara, Shizuka Saruwatari

Department of Nutrition, Faculty of Nursing and Nutrition,  
Kagoshima Immaculate Heart University

Key words: trans fatty acid, margarine, aggressive behavior, anxiety behavior

### Abstract

Excessive consumption of industrially produced trans fatty acid has been known to induce vascular disease, insulin resistance, inflammation and cancer, but little is known on behavior. Our aim of this study is to investigate whether margarine is associated with aggressive and anxiety behavior of rats. We also investigated to identify the difference between control and stress circumstances.

The rats were fed either olive oil (n-9), corn oil (n-6), fish/egoma oil (n-3) or margarine (trans) for 11weeks. We evaluated body weight, aggression and anxiety behavior, and plasma and liver lipid profile.

The body weight of margarine gained lower than other diet groups. In contrast, fish group gained the highest in both control and stress. In aggressive behavior, there was no difference among diet groups, but in stress, margarine group behaved differently from other groups by losing fighting. Moreover, in anxiety test, differently from the other groups, margarine group behaved normally as like out of fear in both control and stress. Contrary, olive group behaved anxiety very sensitively than other groups.

Margarine group did not have adverse effect of blood and liver biological signs.

The conclusion of this study was that margarine of normal intake did not affect blood and liver biological values, but in spite of low intake of margarine, it affected the aggressive and anxiety behaviors. It suggests trans fatty acid is still unclear on behavior, and it must continue to be cleared.

---