

博士論文

脂質の嗜好性に関する研究
A Study of Preference for Fat

2013 年度

指導教員 池本 真二 教授

人間栄養学研究科	人間栄養学専攻
学籍番号	1000-110401
氏名	佐藤 明恵 Akie Sato

目次

第 1 章	緒論	1
第 2 章	成長期ラットにおけるラード・大豆油・魚油添加飼料の摂取が成熟後の魚油の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響（研究 1）	
第 1 節	実験方法	
第 1 項	実験材料および試薬等	10
第 2 項	飼料	10
第 3 項	実験動物および飼育方法	10
第 4 項	実験計画	11
第 1 章	分析方法	12
第 2 章	統計処理	13
第 2 節	結果	13
第 3 節	考察	14
第 3 章	ラード食摂取ラットの n-3 系脂肪酸摂取の補足に及ぼす植物油および魚油由来の n-3 系多価不飽和脂肪酸の影響（研究 2）	
第 1 節	実験方法	
第 1 項	実験材料および試薬等	19
第 2 項	飼料	19
第 3 項	実験動物および飼育方法	19
第 4 項	実験計画	20

第 5 項	分析 方法	20
第 6 項	統計 処理	21
第 2 節	結 果	21
第 3 節	考 察	22
第 4 章	亜鉛欠乏飼料の摂取がラットのラード食と魚油食の嗜好性に及ぼす影響（研究 3）	
第 1 節	実験 方法	
第 1 項	実験材料および試薬	25
第 2 項	飼 料	25
第 3 項	実験動物および飼育方法	25
第 4 項	実験計画	25
第 5 項	分析 方法	25
第 6 項	統計 処理	26
第 2 節	結 果	27
第 3 節	考 察	28
第 5 章	成長期ラットにおける亜鉛欠乏飼料の摂取が成熟後の魚油の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響（研究 4）	
第 1 節	実験 方法	
第 1 項	実験材料および試薬	32
第 2 項	飼 料	32

第 3 項	実験動物および飼育方法	33
第 4 項	実験計画	33
第 7 項	分析方法	33
第 8 項	統計処理	34
第 2 節	結果	37
第 3 節	考察	34
第 6 章	妊娠・授乳期の摂取油脂が離乳後の仔ラットの 油脂嗜好性に及ぼす影響（研究 5）	
第 1 節	実験方法	
第 1 項	実験材料および試薬	44
第 2 項	飼料	44
第 3 項	実験動物および飼育方法	44
第 4 項	実験計画	44
第 5 項	分析方法	44
第 6 項	統計処理	44
第 2 節	結果	45
第 3 節	考察	47
第 7 章	総括	50
	謝辞	59
	参考文献	60-71
	Tables	72-91
	Figures	92-97

第 1 章 緒論

平成 23 年国民健康・栄養調査¹⁾の食品群別摂取量をみると、60 歳以上では魚介類摂取量は肉類摂取量を上回っているのに対し、若年者では魚介類摂取量は肉類摂取量を下回っており、若年者では“魚離れ”が生じている。動物性脂肪は飽和脂肪酸やコレステロールを多く含み、過剰摂取は動脈硬化や心疾患をはじめとする生活習慣病の原因となる²⁾。一方で、魚由来の脂質に含まれる eicosapentaenoic acid (EPA) や docosahexaenoic acid (DHA) などの n-3 系多価不飽和脂肪酸は、血漿脂質低下作用や抗血栓作用等があることが知られている³⁾。そこで、本研究では、若年者の動物性食品摂取量が増加し、魚介類摂取量が減少している原因の究明を目的に、ラットを用いて研究を行った。

先行研究において、成長期ラットに低脂肪・高糖質食飼料 (LFD)、LFD とセルロースを添加して等カロリーになるよう調製したラード添加高脂肪・低糖質食飼料 (ラード HFD) または魚油添加高脂肪・低糖質食飼料 (魚油 HFD) のいずれかを 8 週間加え、成熟後にラード HFD 摂取群には LFD とラード HFD の、魚油 HFD 摂取群には LFD と魚油 HFD の選択摂取を 3 週間行わせ、成長期の摂取脂質の差異が成熟後の脂質摂取嗜好に及ぼす影響を調べた⁴⁾。HFD 摂取割合 [HFD 摂取量 (g) / 総摂取量 (g)] は魚油 HFD 摂取群がラード HFD 摂取群に比べて低かったことから魚油 HFD の嗜好性はラード HFD に比べて低いことがわかった。また、

魚油 HFD 摂取群の LFD と魚油 HFD 摂取量から計算した選択摂取期間の脂質摂取量は 5.8g/100g 飼料であった。この値は AIN-93G の脂質量 (7g/100g) と AIN-93M の脂質量 (4g/100g) の間であった。一方で、ラード HFD 摂取群の脂質摂取量は 8.0g/100g 飼料であった。したがって、魚油 HFD は適切な脂質量になるように摂取されており、ラード HFD 摂取のような脂質の過剰摂取は引き起こさなかった。

また、成長期の摂取油脂の差異が成熟後の脂質摂取嗜好に及ぼす影響について、ラード HFD、大豆油 HFD、魚油 HFD のそれぞれと LFD を選択摂取させて 3 種類の油脂の嗜好性を調べるとラードが最も高く、大豆油、魚油の順に低いことがわかった⁵⁾。したがって、魚油の嗜好性はラードより低いことから魚油食 (FD) とラード食 (LD) を同時に与えて選択摂取させると FD の摂取量は低く、n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取が不足する可能性が考えられる。研究 1⁶⁾では、成長期のラットを LD、大豆油食 (SD)、FD の 3 種類の飼料で飼育し、成熟後、LD と FD の選択摂取をさせ、成長期の摂取油脂の差異が成熟後の油脂の嗜好性に及ぼす影響を検討した。

シソ油は α -linolenic acid (ALA) を豊富に含んでおり、EPA や DHA を含む魚油とともに n-3 系脂肪酸の給源となっている。ALA から EPA や DHA は動物体内で長鎖化と不飽和化により生合成されるが生合成速度は遅く、多量の ALA を摂取しても必要量の EPA + DHA は合成されない⁷⁾。さらに、ALA と EPA + DHA の生理作用は必ずしも同じではないとす

る報告があることから^{8,9)}、シソ油と魚油の生理作用の比較を試みた。研究2¹⁰⁾では、長期間LDで飼育しn-3系脂肪酸欠乏にしたラットに、実験1ではLDとFDを、実験2ではLDとシソ油飼料(PD)を同時に与えて両飼料の選択摂取をさせ、シソ油と魚油のn-3系脂肪酸の不足を補足する効果について調べた。また、シソ油にも魚油と同様に血漿脂質濃度低下作用があるかどうか調べた。

2010年版日本人の食事摂取基準¹¹⁾では、18歳以上の亜鉛(Zn)の推定平均必要量は、男性10mg/日、女性7mg/日に設定されている。日本人はZnを穀類、肉類、卵類などから摂取しているが、成人のZn摂取量は男性が7.1~10.7mg/日、女性が5.6~9.3mg/日であり、1日の摂取量は1日の必要量に近い¹²⁾。Znの吸収はフィチン酸やシュウ酸、食物繊維、ポリフェノールによって阻害され、植物性食品を多く摂取している場合は、潜在的ないし軽度のZn欠乏症を引き起こしている可能性が考えられる¹³⁾。アメリカで行われた小児の毛髪を用いた必須金属の一斉分析によるとZn含量の低いものが多く存在し、これらの小児では食欲不振、味覚の減退が共通してみられるが、Znの投与により症状は改善することが明らかにされた¹⁴⁾。わが国においても、食事調査から小学生やダイエット中の女子大生にZn摂取量の低いものが存在しており、これらの低Zn摂取者では血漿Zn濃度も低いことが確認されている^{15)、16)}。

Znは数多くのZn含有酵素として機能しており、ヒトお

よび動物の Zn 欠乏症として、皮膚炎、味覚障害、食欲不振、慢性下痢、低アルブミン血症、成長障害、性腺発育障害などを引き起こすことが知られている¹⁷⁾。味覚障害の要因としては、味覚の受容機構に関与する多くの Zn 酵素が味蕾内に存在するため、味蕾細胞の異常であると考えられている¹⁸⁾。ラットに Zn 欠乏飼料を与えると 3~5 日以内に飼料摂取量は低下するが、これが Zn 欠乏の最初の徴候であり、次いで他の欠乏症状が現れることから Zn は摂食の調節に重要な役割を果たしていることが示唆されている¹⁹⁾。Zn は膵臓のランゲルハンス島 β 細胞中に存在し、インスリンの合成と分泌、解糖と糖新生、脂肪酸合成などエネルギーの恒常性維持に関与しており、Zn 欠乏ラットでは、Zn 添加飼料を摂取した対照ラットに比べて体重および体脂肪量は減少し、循環血中のインスリンやレプチン濃度が低下することが報告されている²⁰⁾。

血漿や組織の脂肪酸組成は摂取油脂の差異により変化することはよく知られているが、Zn もまた血漿や組織の脂肪酸組成に影響を与える。Eder と Kirchgessner^{21, 22)} は摂取油脂の差異と Zn 欠乏が組織の脂肪酸組成に与える影響について、亜麻仁油、魚油、ココナッツ油を用いて調べ、いずれの油脂摂取時においても Zn 欠乏により血漿や肝臓リン脂質のリノール酸、アラキドン酸などの n-6 系脂肪酸は低下し、n-3 系脂肪酸が増加することを報告している。Villet ら²³⁾ は、Zn 欠乏ラットに 10% コーン油、もしくは 10% Maxepa® (n-3 系脂肪酸の給源) を与えたと

きの血漿と組織の脂肪酸組成を調べ、Zn 欠乏ラットの血漿や肝臓、腎臓、心臓のトリアシルグリセロールやリン脂質の n-6/n-3 比は、Zn 欠乏ラットとペア・フィーディングした Zn 投与ラットよりも低下するが、この Zn 欠乏ラットでの n-6/n-3 比の低下は Maxepa® 摂取群がコーン油摂取群よりも著しいことを報告している。また、Cunnane ら²⁴⁾ は Zn 欠乏ラットの肝臓リン脂質のリノール酸レベルは高く、アラキドン酸レベルは低いことから、Zn はリノール酸の不飽和化に関与していることを示唆しており、Zn 欠乏ラットの種々の組織において Δ -5 と Δ -6 不飽和化酵素の活性が低下することが報告されている^{25), 26)}。さらに、Zn 欠乏時には必須脂肪酸の β 酸化が促進し、de novo の脂質合成へのリノール酸の利用が高まるという報告がある²⁷⁾ことから、脂肪組織量や脂肪酸組成が変わることが考えられる。

Zn 欠乏による味覚障害や食欲不振発症時には脂肪酸代謝が変化し、血漿や組織の脂肪酸組成に影響を与えていることから、油脂の嗜好性が変化している可能性が考えられる。研究 3²⁸⁾では、ラードと魚油の嗜好性に及ぼす Zn 欠乏の影響を、ラットに LD と FD を選択摂取させることにより調べた。また、研究 1 で、成長期のラットには n-6/n-3 比が一定の割合になるように脂質を摂取する能力があることがわかったが、Zn 欠乏飼料の摂取がこの能力に与える影響を研究 4²⁹⁾で検討した。さらに、Zn 欠乏時における油脂の嗜好性の変化が体組成、血漿脂質やホルモ

ン濃度に及ぼす影響についても調べた。

一方、ヒトや動物を用いた研究から、乳児期の栄養は母乳を介して母親に依存しており、離乳食を介して乳児の食物の好み形成され、その後の食物選択に影響することが報告されている³⁰⁻³²⁾。そこで、研究5³³⁾では妊娠・授乳期のFDまたはLDの摂取が離乳後の仔ラットの油脂の摂取嗜好性に及ぼす影響を調べた。

第 2 章 成長期ラットにおけるラード・大豆油・魚油添加飼料の摂取が成熟後の魚油の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響 (研究 1)

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験材料および試薬等

飼料の調製に用いたカゼイン、コーンスターチ、ラード、セルロース、AIN-93G ミネラル混合、AIN-93G ビタミン混合はオリエンタル酵母工業(株)から、L-シスチン、大豆油、重酒石酸コリン、*t*-ブチルヒドロキノン は和光純薬工業(株)から、魚油は日本水産(株)からイワシ精製油を入手した。

分析に用いたコレステロール E-テストワコー、トリグリセライド E-テストワコーは和光純薬工業(株)から入手した。

第 2 項 飼料

飼料の組成は Table 1 に示した。飼料は AIN-93G 飼料³⁴⁾ に準じて調製し、LD にはラード、SD には大豆油、FD には魚油を 7g/100g 添加し、さらに n-6 系脂肪酸が不足しないように 3g/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。魚油の酸化を防ぐため、FD は毎日調製した。LD、SD、FD の脂肪酸組成は Table 2 に示した。

SD、LD および FD の n-6/n-3 比はそれぞれ 7.0、7.2、

0.78 であった。

第 3 項 実験動物および飼育方法

実験には、4 週齢の Fischer 344 系の雄ラット、48 匹を日本チャールス・リバー（株）より購入して用いた。飼育条件は室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度約 50%、明暗サイクルは 12 時間（7:00-19:00 明期）とした。ラットはステンレス製の飼育ケージで個別に飼育し、飼料と水は自由摂取とした。動物の世話は毎日 10:00-12:00 に行い、体重と飼料摂取量を測定した。

本実験は、聖徳大学動物実験指針に基づき、「実験動物の飼養および保管ならびに苦痛の軽減に関する基準を定める件」（平成 18 年 4 月 28 日、環境省告示第 88 号）に準じて行った。

第 4 項 実験計画

ラットは購入後、3 群間で平均体重および体重のばらつきができるだけ少なくなるように 1 群 16 匹ずつの 3 群に分け、LD 群、SD 群、FD 群とした。LD 群には LD を、SD 群には SD を、FD 群には FD を与えて 8 週間飼育（実験食摂取期間とする）後、各群 6 匹ずつのラットを解剖した。残りのラットには LD と FD を同時に与え、両飼料の選択摂取を 3 週間行わせた（選択摂取期間とする）後、解剖した。

ラットはエーテル麻酔下で心臓から血液を採取し、ヘパリン入り真空採血管（ニプロ（株））に入れた。血液は

1,500×*g*で30分間遠心分離し、血漿を得た。実験動物から、肝臓と後腹壁脂肪組織を採取し、重量を測定した。血漿および肝臓は測定までフリーザー（-80℃）で冷凍保存した。

第5項 分析方法

肝臓の総脂質は、Folch ら³⁵⁾の方法に準じてクロロホルム・メタノール（2:1）で抽出した。脂質抽出液 100μL に同量のコール酸ナトリウム溶液（100mg/mL メタノール）を加え減圧下で乾固した後、イオン交換水 1.5mL を加えて溶解し、肝臓の脂質測定液とした。

血漿および肝臓のトリアシルグリセロール（TG）の測定は、トリグリセリド E-テストワコーを用い、総コレステロール（T-cho）の測定には、コレステロール E-テストワコーを用いて行った。

油脂の脂肪酸を測定するため、Morrison らの方法³⁶⁾に基づいてメチル化を行った。飼料の脂質抽出液 1mL に 0.5mol/L 水酸化ナトリウム・メタノール溶液 1.5mL を加えて 100℃で 9分加熱した。三フッ化ホウ素酸ナトリウム錯体メタノール溶液 2mL を加え、100℃で 7分加熱した。冷却後、ヘキサン 3mL を加えて激しく振とうし、飽和食塩水 5mL を加え軽く振とうした後、遠心分離（1,500×*g* 10分間）し、ヘキサン層を試験溶液とした。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）装備のガスクロマトグラフ（G-3500：日立製作

所(株))で測定した。温度は、飼料注入口 140℃、検出器 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。

第 6 項 統計処理

数値は平均±標準偏差(Mean±SD)で表した。多群間の比較は一元配置分散分析後(ANOVA)、Scheffeの多重比較を用いて検定した(Table 3,4)。Figure 1の経時変化の比較は二元配置分散分析後、scheffeの多重比較を用いて検定を行った。 $p<0.05$ で有意差ありとした。ソフトはエクセル統計 2004(社会情報サービス(株))を用いた。

第 2 節 結果

実験食摂取期間中の総飼料摂取量は、SD群、LD群およびFD群間で有意な差はみられなかった(Table 3)。また、体重および後腹壁脂肪組織重量にもこれらの3群間で有意な差はみられなかったが、肝臓重量はSD群が最も低く、FD群が最も高く、両群間に有意な差がみられた($p<0.05$)。血漿TG濃度はLD群が最も高く、FD群が最も低く、両群間に有意な差がみられた($p<0.05$)。血漿T-cho濃度は、FD群が他の2群に比べて有意に低かった($p<0.05$)。肝臓TG濃度には3群間で有意な差はみられなかったが、肝臓T-cho濃度はFD群が他の2群に比べて有意に高かった($p<0.05$)。

選択摂取期間の総飼料摂取量には3群間で有意な差は

みられなかった (Table 4)。しかし、LD摂取量は、LD群が最も低く、逆にFD群が最も高く、両群間に有意な差がみられた ($p < 0.05$)。またFD摂取量は、LD群が最も高く、FD群が最も低く、両群間に有意な差がみられた ($p < 0.05$)。したがって選択摂取期間のFD摂取割合は、LD群が最も高く、次いでSD群、FD群の順に低くなった ($p < 0.05$)。選択摂取期間のFD摂取割合を経時的にみると、選択摂取開始直後(1-3日)のFD摂取割合はLD群が最も高く、SD群、FD群の順に低かった (Figure 1) ($p < 0.05$)。しかし、LD群とSD群のFD摂取割合は低下し、逆にFD群では増加し、選択摂取7日日以降のFD摂取割合は約20%となり、3群間に有意な差はみられなくなった。

選択摂取期間終了後の体重、肝臓重量および後腹壁脂肪組織重量は3群間で有意な差はみられなかった (Table 4)。また血漿TG濃度およびT-cho濃度にも3群間で有意な差はみられなかった。肝臓TG濃度には3群間で有意な差はみられなかったが、肝臓T-cho濃度はLD群が最も低く、FD群が最も高く、両群間に有意な差がみられた ($p < 0.05$)。

第3節 考察

本研究では成長期ラットにLD、SD、FDを8週間摂取させた後にLDとFDの選択摂取を3週間行わせ、油脂の嗜好性に及ぼす成長期の摂取油脂の影響を調べた。

選択摂取開始直後（1-3日目）のFD摂取割合は、LD群が最も高く、SD群、FD群の順に低下した。LD群は最もn-3系脂肪酸摂取量が少なかったことから、FD群を最も多く摂取し、SD群も十分でなかったn-3系脂肪酸の摂取をFDの選択摂取をすることで補ったと考えられた（Figure 1）。n-3系脂肪酸摂取量が高かったFD群のFD摂取割合は、選択摂取開始直後は低かったが、次第に増加し、7-9日目以降のFD摂取割合は3群間で有意差はみられなくなった。これらの結果から3群のラットは選択摂取開始直後に実験食摂取期間に不足した、または過剰に摂取した脂肪酸を補足し、その後はFD摂取割合が約20%となるようにLDとFDを摂取したと考えられた。

魚油に含まれるEPAやDHAには血漿脂質低下作用があることが知られている³⁷⁻⁴⁰⁾。本研究では実験食摂取期間後のFD群の血漿脂質濃度はLD群、SD群に比べて低かった（Table 3）が、選択摂取期間後の血漿脂質濃度は3群間で有意な差はみられなくなった（Table 4）。LD群とSD群のラットは選択摂取開始直後に実験食摂取期間に不足したn-3系脂肪酸を補足した結果、血漿脂質濃度は低下し、その後は血漿脂質濃度を上昇させないようにFDを摂取したと推測された。3群のラットが選択摂取期間に摂取したn-6/n-3比を計算すると3となり、これが適正な脂肪酸摂取比率であると考えられる。以上のことから、ラットは適正な必須脂肪酸摂取比率でLDとFDを選択的に摂取する能力を有していると考えられた。

血中脂質濃度は食餌の影響を受けやすいため、空腹時の血液を使って測定するのが一般的であるが、本研究では生理的条件下での血中脂質濃度を測定するため、摂食時の血中脂質濃度を測定した。測定値にばらつきはみられたが、FD 摂取によって血中脂質濃度は低下することは確認できた。所澤ら⁴¹⁾は非絶食下での血中脂質濃度を測定し、脂肪源を魚油とした 30、60 エネルギー%の飼料どちらにおいても紅花油飼料摂取ラットに比べて血中脂質濃度が低下することを報告している。さらに、血中脂質低下作用に魚油の用量依存性はみられず、30 から 60 エネルギー%に魚油の摂取量を増やしても血漿脂質低下作用は増強されなかったとしている。本研究の飼料の脂質量は 10%としたが、FD 群の血漿脂質濃度は他の 2 群に比べて有意に低下した。FD の n-6/n-3 比は 0.78 であり、FD 群が選択摂取期間に摂取した n-6/n-3 比の約 1/4 であったが、FD 群の血漿脂質濃度は実験食摂取期間後、選択摂取期間後ともに有意な差はみられなかった (Table 3, 4)。FD の n-6/n-3 比である 0.78 と選択摂取期間の n-6/n-3 比である 3 の間には用量依存性はなかったことから、ラットの血漿脂質低下作用は n-6/n-3 比が 3 で効果があり、n-3 系脂肪酸摂取比率をこれ以上増やしても血漿脂質低下作用の増強はみられないと推測された。n-6/n-3 比は 3 で、血中脂質濃度を上昇させないために必要な最小の値であると考えられた。

実験食摂取期間後の肝臓重量は FD 群が他の 2 群に比べ

高かったが、選択摂取期間後には 3 群間に有意な差はみられなくなった (Table 3, 4)。

肝臓 TG 濃度は 3 群間で有意な差はみられなかったが、T-cho 濃度は FD 群が最も高かった。n-3 系 PUFA は遺伝子発現を制御する転写因子である Sterol Regulatory Element-binding Protein (SREBP) の発現に関与している。SREBP-2 はコレステロール代謝関連遺伝子の転写を制御することが明らかになっていて⁴²⁻⁴⁴⁾、肝臓でのコレステロール合成は、コレステロールによるフィードバック調節を受けているが⁴⁵⁾、FD 群では血漿 T-cho 濃度が低く、このことから、SREBP-2 の発現を介してコレステロール合成が亢進していることが考えられた。

油脂の脂肪酸組成は油脂の栄養的特性だけではなく、化学的性質、物理的性質に関与する。本研究で使用した 3 種類の油脂の脂肪酸組成はそれぞれ異なり、融点、粘度、乳化、可塑性といった油脂の物理的性質と関連性があり、油脂の物理的性質は飼料の嗜好性に影響する要因の 1 つである。先行研究において、ラットの魚油の嗜好性はラードに比べて低いことを報告した^{4, 5)}。しかし LFD と魚油 HFD を選択摂取させるとラットは適正な脂質量になるように魚油 HFD を摂取し、ラード HFD 摂取でみられた脂質の過剰摂取は引き起こさなかった。本研究では LD と FD の選択摂取を行った。選択摂取開始直後には LD 群では FD の摂取が増加したが、その後は 3 群とも FD 摂取割合が約 20% となり、n-3 系脂肪酸の不足が起こらないように FD

を摂取し、FDを過剰に摂取することはないと考えられた。しかし n-3 系脂肪酸の過剰な摂取を避けているのか、魚油の嗜好性が低いことによるのかは不明であり、更なる研究が必要である。

以上をまとめると、ラットは実験食摂取期間に不足した脂肪酸を含む飼料を美味しいと感じ、選択摂取期間開始後すぐに不足した脂肪酸を補足したと推測される。さらに、ラットは不足した脂肪酸を補足した後、3群とも n-6/n-3 比はほぼ 3 になるように LD と FD を選択摂取したが、これ以上に n-3 系脂肪酸の摂取比率を増やしても血漿脂質低下作用は増強されないことから、ラットは必要量の n-3 系脂肪酸を摂取したと考えられた。

第 3 章 ラード食摂取ラットの n-3 系脂肪酸摂取の補足に及ぼす植物油および魚油由来の n-3 系多価不飽和脂肪酸の影響

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験材料および試薬等

第 2 章 第 1 節 第 1 項に示したとおりである。シソ油は紅花食品（株）から入手した。

第 2 項 飼料

実験に用いた飼料の組成は Table 5 に示した。飼料は AIN-93G 飼料³⁴⁾に準じて調製し、脂質源として LD にはラードを、FD には魚油を、PD にはシソ油を添加した。また、n-6 系脂肪酸の不足を防ぐために 3 種類の飼料に大豆油（3g/100g 飼料）を添加した。FD と PD は酸化を防ぐために毎日調製した。飼料の脂肪酸組成は Table 6 に示した。LD、FD、および PD の n-6/n-3 比はそれぞれ 7.13、0.69、0.51 であった。

第 3 項 実験動物および飼育方法

実験には 4 週齢の Fischer 344 系の雄ラットを日本クレア（株）より購入して用いた。飼育条件は第 2 章 第 1 節 第 3 項と同様である。

第 4 項 実験計画

実験 1

4 週齢の雄ラットを 1 群 16 匹ずつの 2 群に分け、1 群は LD で、他群は FD で 6 週間飼育した（実験食摂取期間とする）後、各群 6 匹ずつを解剖した。両群の残りのラットには LD と FD を同時に与え、両飼料の選択摂取を 3 週間行わせた（選択摂取期間とする）後、解剖した。

実験 2

4 週齢の雄ラットを 1 群 16 匹ずつの 2 群に分け、1 群は LD で、他群は PD (シソ油食) で 6 週間飼育した（実験食摂取期間とする）後、各群 6 匹ずつを解剖した。両群の残りのラットには LD と PD を同時に与え、両飼料を 3 週間選択摂取させた（選択摂取期間とする）後、解剖した。

実験 1、実験 2 とともに第 2 章第 1 節第 4 項に示す方法で血漿、後腹壁脂肪組織、肝臓を得た。

第 5 項 分析方法

第 2 章第 1 節第 5 項に示す方法で測定を行った。

第 6 項 統計処理

数値は平均±標準偏差 (Mean±SD) で表した。多群間の比較は一元配置分散分析後 (ANOVA)、Scheffe の多重比較を用いて検定した (Table 3, 4)。Figure 2, 3 の経時変化の比較は二元配置分散分析を行った。 $p < 0.05$ で有意差あ

りとした。ソフトはエクセル統計 2004（社会情報サービス（株））を用いた。

第 2 節 結果

実験 1

実験食期間中、LD 群と FD 群の総飼料摂取量に有意な差はみられなかった（Table 7）。実験食摂取期間後の体重、肝臓、後腹壁脂肪組織重量は 2 群間で有意な差はみられなかった。FD 群の血漿 TG 濃度と T-cho 濃度は LD 群に比べて低かった（ $p < 0.05$ ）。肝臓の TG 濃度は 2 群間で有意差はみられなかったが、T-cho 濃度は FD 群が LD 群より高かった（ $p < 0.05$ ）。選択摂取期間中の総飼料摂取量、体重は 2 群間で有意差はみられなかった。LD 群の LD 摂取量は FD 群より低かったが、LD 群の FD 摂取量は FD 群よりも高かった（ $p < 0.05$ ）。選択摂取期間の FD 摂取割合は FD 群が有意に低かった（ $p < 0.05$ ）。選択摂取期間の FD 摂取割合の経時変化は Figure 2 に示した。選択摂取期間 1-3 日目の LD 群と FD 群の FD 摂取割合はそれぞれ 48%、13%であった。しかし、選択摂取 7-9 日後には LD 群の FD 摂取割合は低下し、FD 群では増加し、9 日目以降、FD 摂取割合に 2 群間で有意な差はみられなくなった。

選択摂取期間の体重、肝臓・後腹壁脂肪組織重量、血漿・肝臓中脂質濃度は 2 群間で有意差はみられなかった。

実験 2

実験食摂取期間中の LD 群と PD 群の総飼料摂取量に有意な差はみられなかった (Table 8)。実験食摂取期間後、体重、肝臓・後腹壁脂肪組織重量、血漿脂質濃度は 2 群間で有意差はみられなかった。肝臓 TG 濃度は 2 群間で有意差はみられなかったが、肝臓 T-cho 濃度は PD 群が LD 群よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。

選択摂取期間中、総飼料摂取量と体重は LD 群と PD 群で有意な差はみられず、PD 摂取割合は LD 群と PD 群の 2 群間で有意な差はみられなかった。選択摂取期間の PD 摂取割合の経時変化は Figure 3 に示した。選択摂取期間を通して PD 摂取割合は 2 群間で有意な差はみられなかった。選択摂取期間後の体重、肝臓・後腹壁脂肪組織重量、血漿・肝臓脂質濃度は 2 群間で有意差はみられなかった (Table 8)。

第 3 節 考察

実験 1 では、長期間 LD で飼育し n-3 系脂肪酸不足にしたラットに LD と FD を同時に与えて両飼料を選択摂取させると、選択摂取開始直後に多量の FD を摂取したことから、ラットは n-3 系脂肪酸の不足を補足する能力を有しており、その結果、LD の摂取により上昇していた血漿脂質濃度が低下したという結果が得られ、研究 1 と同様の結果が得られた。さらに、LD 群と FD 群のラットは、ともに n-3 系脂肪酸不足を補足した後には FD 摂取割合が約 20% にな

るようLDとFDを摂取しており、n-6/n-3比が一定になるように両飼料を選択摂取することも確認できた。

実験2では、シソ油に含まれるALAは、魚油に含まれるEPA+DHAと同様に、LD摂取によるn-3系脂肪酸不足を補足することができるかどうか、またALAにも血漿脂質濃度低下作用があるかどうかを調べることを目的とした。

Table 8に示したように、実験食摂取後のPD群の血漿TGとT-cho濃度は、LD摂取群と比べて有意な低下はみられなかった。このことからALAにはEPA+DHAのような血漿脂質濃度低下作用はないという結果が得られた。

魚油またはEPAの摂取により血漿脂質濃度が低下することを調べた報告は多数ある³⁷⁻⁴⁰⁾。しかし、Finnergenら⁴⁶⁾は、6カ月間にわたり4.5gおよび9.5gのALAの介入試験を行ったが、空腹時および摂食時の血漿脂質濃度の明らかな低下はみられなかったこと、Barceleo - Coblijinら⁴⁷⁾は、亜麻仁油3.6gの介入試験を12週間行ったが、血漿脂質濃度の有意な低下はみられなかったことを報告している。この理由として、食餌から摂取したALAは動物体内で長鎖化と不飽和化を受けてEPA+DHAに変換した後、n-3系脂肪酸としての効果を発揮するが、ALAからさらに長鎖の脂肪酸へ転換される速度が遅いことによると推測されている^{47, 48)}。ALAのEPA+DHAへの変換については、ALA7gから変換されるEPA+DHAは約1gであると推測されている⁴⁹⁾が、この程度ではALAの摂取により組織のEPA+DHA濃度を十分に増加させる効果は期待できない。ALAの大

部分は β 酸化を受けて代謝されるか、または他の脂肪酸にリサイクルされると推測される。ALAから変換されるEPA+DHA量を1/7として、実験2で実験食摂取期間にPD群が摂取したALAからEPA+DHAへの変換量を計算すると、摂取脂肪酸量の6.3%(44.4 \div 7)となる。この量はFDに含まれるEPA+DHA量(18.9%)に比べて低いことから、PDの摂取ではFDを摂取したときほど血漿脂質濃度を低下させることはできなかつたと推測された。

また、実験2では、実験食摂取期間にLDを摂取させてn-3系脂肪酸不足にしたラットにLDとPDを選択摂取させたが、LD群のラットは選択摂取開始後にPDを大量に摂取することはなかった。このことから、PDにはn-3系脂肪酸の不足を補足する効果はないと考えられた。その理由として、n-3系脂肪酸不足の補足に関してもALAのn-3系脂肪酸としての効果は、EPA+DHAに変換された後に発揮されるためであり、ALAそれ自身としては効果を示さないことによると推測された。本研究結果から、シソ油に含まれるALAと、魚油に含まれるEPA+DHAの生理的な効果が異なることは明らかであり、さらに、両油脂の生理的効果の違いが自発的な油脂摂取欲である嗜好性にも影響を与えると推測された。

第 4 章 亜鉛欠乏飼料の摂取がラットのラード食と魚油食の嗜好性に及ぼす影響

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験材料および試薬等

第 2 章第 1 節第 1 項に示した通りである。また、Zn テストワコー、ラットインスリン ELISA キット、ラットレプチン ELISA キットは和光純薬工業（株）より購入した。

第 2 項 飼料

実験に用いた飼料の組成は Table 9 に示した。AIN-93G³⁴⁾の脂質レベル（7%）に準じて、脂質源として LD にはラード、FD には魚油（7g/100g 飼料）を添加した。また n-6 系脂肪酸の不足を防ぐため、大豆油（3g/100g 飼料）を両飼料に加えた。さらに、AIN-93G 組成³⁴⁾のミネラル混合から ZnCO₃を除いたため、ZnD 食の Zn の含有量は 0.9mg/kg であった。ZnM 食と ZnA 食にはそれぞれ 5mg Zn/kg、30mg Zn/kg を加えたため、ZnM 食と ZnA 食の Zn 量は 5.9mg Zn/kg、30.9mg Zn/kg となった。飼料の脂肪酸組成は Table 10 に示した。LD と FD の n-6/n-3 比はそれぞれ 7.2 と 0.78 であった。

第 3 項 実験動物および飼育方法

実験には 4 週齢の Fischer 344 系の雄ラットを日本チャールス・リバー（株）より購入して用いた。飼育条件は

第 2 章 第 1 節 第 3 項と同様である。

第 4 項 実験計画

ラットは購入後、7%大豆油を含む AIN-93G 飼料を与えて三日間予備飼育した後、1群 6匹ずつの 3群に分け、ZnD 群、ZnM 群、ZnA 群とした。ZnD 群には ZnD-LD と ZnD-FD を、ZnM 群には ZnM-LD と ZnM-FD を、ZnA 群には ZnA-LD と ZnA-FD を同時に与えて両飼料の選択摂取を 24 日間行わせた。

第 2 章 第 1 節 第 4 項に示す方法で血漿、後腹壁脂肪組織、肝臓を得た。

第 5 項 分析方法

第 2 章 第 1 節 第 5 項に示す方法で測定を行った。

また、血漿中の Zn は Zn テストワコー、インスリン、レプチン濃度は ELISA キットを用いて測定した。

第 6 項 統計処理

数値は平均±標準偏差 (Mean±SD) で表した。群間の比較は ANOVA を用いて検定した (Table 11, 12: 一元配置分散分析、Figure 4: 二元配置分散分析)。Figure 3 の経時変化の比較は Scheffe の多重比較検定を用いて行った。 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

第 2 節 結果

実験期間中、ZnD 群のラットには体毛の硬化、飼料摂取量の低下、体重低下といった Zn 欠乏時の症状がみられたが、ZnM 群と ZnA 群のラットには異常はみられなかった。血漿 Zn 濃度は ZnD 群が 3 群間で最も低く、ZnA 群が最も高かった ($p < 0.05$) (Table 12)。

実験期間中の総飼料摂取量 (LD+FD) は ZnD 群が他の 2 群に比べて有意に低かったが ($p < 0.05$)、ZnA 群と ZnM 群の総飼料摂取量には有意差はみられなかった (Table 11)。さらに、実験期間中のエネルギー効率 (g gain/kcal energy) を求めると ZnD 群が他の 2 群に比べて有意に低かった ($p < 0.001$) (Table 11)。LD 摂取量は ZnD 群が他の 2 群に比べて低かったが、ZnA 群と ZnM 群では有意差はみられなかった。FD 摂取量は ZnD 群が 3 群間で最も低く、ZnA 群が最も高かった ($p < 0.05$)。

選択摂取期間中の FD 摂取割合を Figure 4 に示した。選択摂取開始 1-3 日目は 3 群間で有意差はみられなかったが、ZnD 群の FD 摂取割合は 4-6 日目に約 5% に低下し、その後、ZnD 群の FD 摂取割合が有意に増加することはなかった。しかし、ZnM 群と ZnA 群の FD 摂取割合はそれぞれ選択摂取 13-15 日目と 7-9 日目以降に有意に増加したため、選択摂取 7-9 日目以降の FD 摂取割合は ZnD 群が最も低く、ZnA 群が最も高くなった。選択摂取終了時の ZnD 群、ZnM 群、ZnA 群の 1 日当たりの FD 摂取量はそれぞれ

0.5g、2.0g、4.5g であった。

ZnD 群の体重および後腹壁脂肪組織重量は他の 2 群に比べ低かったが ($p < 0.05$)、ZnA 群と ZnM 群では有意差はみられなかった (Table 12)。肝臓重量は 3 群間で有意差はみられなかった。

肝臓 TG 濃度と T-cho 濃度は ZnD 群が ZnA 群の濃度に比べ有意に低値であった ($p < 0.05$)。

血漿中の TG 濃度は ZnD 群が ZnA 群より有意に低く、T-cho 濃度は ZnD 群が他の 2 群に比べて有意に低値であった ($p < 0.05$)。

血漿中のインスリン濃度は 3 群間で有意差はみられなかったが、レプチン濃度は ZnD 群が他の 2 群よりも有意に低かった ($p < 0.05$)。

第 3 節 考察

本研究では Zn 欠乏のラットの LD と FD の嗜好性への影響を調べた。ZnM 群のラットは体重、総飼料摂取量は低下しなかった。Ohinata ら¹⁹⁾ は 0.7mg Zn/kg の Zn 欠乏食をラットに与えると 5 日目に血漿 Zn 濃度は Zn 添加群、ペア・フィーディング群に比べて低下し、Zn 欠乏食を与えてすぐに 1 日の総飼料摂取量は減少し始め、Zn 欠乏群の体重も飼料摂取量の減少によって低下することを報告している。しかし、Zn 欠乏が引き起こす食欲不振のメカニズムについてはまだ明らかになっていない。

本研究の主な目的は Zn 欠乏が FD の嗜好性にどのような

に影響するかを検討することである。LD と FD の選択摂取を行った結果、3 群間で FD の選択摂取のパターンに違いがあることがわかった。ZnA 群と ZnM 群の FD 摂取割合は一時的に減少したものの、明らかに増加した。研究 1⁶⁾、研究 2¹⁰⁾ において、正常なラットを用いて実験を行い、実験食摂取期間として研究 1⁶⁾ では 3 群のラットに LD、SD、FD を与え、研究 2¹⁰⁾ では 2 群のラットに LD もしくは FD を与え、選択摂取期間として LD と FD を選択摂取させた。その結果、各群とも実験食摂取期間に不足した脂肪酸を選択摂取開始直後に補足し、n-6/n-3 比が研究 1 では 3、研究 2 では 2.7 になるように LD と FD を摂取した^{6), 10)}。これらの結果から、ラットは適正な必須脂肪酸比率になるように脂質を選択摂取する能力があることを推測した。しかし、本研究では ZnD 群ラットは実験期間を通して LD を多く摂取し、FD をほとんど摂取しなかったことから、Zn 欠乏食を摂取したラットでは必須脂肪酸を適正な比率で摂取する能力は失われることが考えられた。

Zn は脂質代謝、インスリン抵抗性、肥満に関係するといわれている^{50, 51)}。血糖値を抑制するだけでなく、脳内にも作用して摂食を抑制するインスリンや、食欲を抑制して肥満において重要な役割を果たすレプチンといったホルモンの発現や分泌に関与している。インスリンやレプチンのような末梢ホルモンは視床下部の受容体を介して飼料摂取量、エネルギー消費に影響を与えることから、血漿インスリンとレプチン濃度を測定した。ZnD 群のレプ

チン濃度は他の 2 群に比べ有意に低下したが、インスリン濃度は有意な低下はみられなかった。ZnD 群の血漿レプチン濃度の低下として、ZnD 食の摂取による飼料摂取量の低下から体脂肪量の減少が起こり、その結果 ZnD 群の血漿レプチン濃度が低下したと考えられた。したがって、ZnD 食摂取時の飼料摂取量の低下はレプチン濃度の影響を受けたのではなく、ZnD 食を摂取したことで起こる飼料摂取量の低下の影響を受けてレプチン濃度が低下したことが考えられた。ホルモンによる食欲の調節機構は複雑であり、Zn 摂取量と血漿レプチン濃度が食物摂取量の調節に関与する機構を明らかにするためには更なる研究が必要である。

魚油や EPA、DHA の摂取による血漿脂質低下作用については多く報告がある³⁷⁻⁴⁰⁾。第 2 章、第 3 章においても FD 群の血漿脂質濃度は LD 群に比べて低いことを述べたが、研究 3 では ZnD 群のラットは FD をほとんど摂取しなかったにもかかわらず、血漿と肝臓の脂質濃度は、ZnD 群は ZnA 群に比べて有意に低値であった。Cunnane ら²⁴⁾は Zn 欠乏食を与えられたラットの肝臓 TG 中の脂肪酸はコントロール食摂取のラットに比べて低値であることを報告している。ZnD 群の血漿と肝臓脂質濃度は摂食量の低下の影響を受けて低下したと考えられ、FD 摂取の影響ではないと考えられた。ZnD 群は ZnA 群と比べて体重と体脂肪が有意に低下し、レプチン濃度も低下したことから、Zn 欠乏が飼料摂取量の低下を引き起こしたためであると考えられた。

研究 3 から、Zn を除いた飼料を摂取したラットの FD の嗜好性は低いことが明らかとなった。ラードと魚油の脂肪酸組成の違いは栄養的特性のみならず物理的性質にも大きく関連する。油脂の融点、粘性、乳化性、可塑性などの物理的性質の違いは調理性に関与し、嗜好性を左右する大きな要因である。しかし、油脂の風味と魚油の嗜好性の関連性を調べた研究は我々の知る限りではみあたらず、さらに Zn 摂取状況が魚油の嗜好性に及ぼす影響について調べた研究は皆無といえる。研究 3 は、飼料の Zn 含量が油脂の嗜好性に関与することを調べた最初の報告である。低 Zn 食の摂取は、魚油の嗜好性を低下させる要因の一つであると考えられるが、原因究明のためには更なる研究が必要である。

第 5 章 成長期ラットにおける亜鉛欠乏飼料の摂取が成熟後の魚油の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験材料および試薬等

第 2 章第 1 節第 1 項に示したとおりである。また、ホルモンの測定については第 4 章第 1 節第 1 項に示した通りである。血漿のグルコース濃度はグルコース E-テストワコーを和光純薬工業（株）より購入して用いた。

第 2 項 飼料

実験に用いた飼料の組成は Table 13 に示した。AIN-93G³⁴⁾のミネラル混合から $ZnCO_3$ を除いた飼料を Zn 欠乏飼料（-Zn 食）とした。-Zn 食の Zn 含有量は 0.7mg/kg であった。-Zn 食に 30mg/kg の Zn を添加した飼料を Zn 添加飼料（+Zn 食）としたため、+Zn 食の Zn 含有量は 30.7mg/kg であった。飼料には AIN-93G の脂質レベルに準じてラードまたは魚油を 7g/100g 添加した飼料を調製した。ラードを添加した飼料をそれぞれ Zn 添加ラード食（+ZnLD）と Zn 欠乏ラード食（-ZnLD）、魚油を添加した飼料をそれぞれ Zn 添加魚油食（+ZnFD）と Zn 欠乏魚油食（-ZnFD）とし、4 種類の飼料を作成した。さらにいずれの飼料にも n-6 系脂肪酸が不足しないように大豆油を 3g/100g 加え、脂質含量 10% の飼料とした。増加分はコーンスタ

一チを減らして調製した。FD は魚油の酸化を防ぐために毎日飼料投与時に調製した。飼料の脂肪酸組成は Table 14 に示した。

飼料の n-6/n-3 比は LD が 9.7、FD が 0.9 であった。

第 3 項 実験動物および飼育方法

実験には 4 週齢の Fischer344 系の雄ラット 64 匹を日本チャールス・リバー（株）より購入して用いた。飼育条件は第 2 章第 1 節第 3 項と同様である。

第 4 項 実験計画

ラットは購入後、AIN-93G³⁴⁾飼料を与えて 3 日間予備飼育した後、群間の平均体重とばらつきがなるべく少なくなるように 1 群 16 匹ずつの 4 群に分け、+ ZnLD 群、+ ZnFD 群、- ZnLD 群、- ZnFD 群とした。4 群のラットはそれぞれの飼料を与えて 3 週間飼育した後、各群 6 匹ずつを解剖した。残りの + Zn 群のラットには + ZnLD と + ZnFD、- Zn 群のラットには - ZnLD と - ZnFD を同時に与え、選択摂取を 3 週間行わせた後解剖した。

第 2 章第 1 節第 4 項に示す方法で血漿、後腹壁脂肪組織、肝臓を得た。

第 5 項 分析方法

第 2 章第 1 節第 5 項に示す方法で測定を行った。血漿中の Zn 濃度、ホルモン濃度の測定は第 4 章第 1 節第 5 項

と同様に行った。血漿グルコース濃度の測定はグルコース E-テストワコーを用いて測定した。

第 6 項 統計処理

数値は平均±標準偏差 (Mean±SD) で表した。4 群間の比較は一元配置分散分析 (ANOVA) 後、Scheffe の多重比較を用いて検定し、2 群間の比較は student の t 検定を行った。選択摂取期間における各週の FD 摂取割合の差については週毎に 4 群間の比較を行った。一元配置分散分析 (ANOVA) 後、Tukey の多重比較検定を行った (Figure 5)。 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

ソフトはエクセル統計 2004 (社会情報サービス (株)) を用いた。

第 2 節 結果

実験開始 4 日目から、-Zn 群のラットに飼料摂取量の低下がみられた。実験食摂取期間中の総飼料摂取量は -Zn 群は +Zn 群に比べて有意に低かったが、-Zn 群と +Zn 群ともに、LD 群と FD 群間に有意な差はみられなかった。このため実験食摂取期間終了時の体重は LD 群と FD 群ともに -Zn 群は +Zn 群に比べて有意に低かったが、-Zn 群と +Zn 群ともに LD 群と FD 群間には有意な差はみられなかった。後腹壁脂肪組織重量は、-ZnLD 群と -ZnFD 群が +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べ有意に低かった (Table 15) ($p < 0.05$)。+Zn 群の後腹壁脂肪組織重量は LD 群が FD 群に比べて有意

に高かったが、-Zn 群では LD 群と FD 群間に有意な差はみられなかった。

血漿 Zn 濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群は +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低かったが、-ZnLD 群と -ZnFD 群、+ZnLD 群と +ZnFD 群間には有意な差がみられなかった。

血漿 TG 濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群は +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低かったが、+ZnLD 群と +ZnFD 群、-ZnLD 群と -ZnFD 群間には有意な差はみられなかった。血漿 T-cho 濃度は -ZnFD 群が +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低かった。血漿グルコース濃度とインスリン濃度は 4 群間で有意な差はみられなかった。血漿レプチン濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群が +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べ有意に低かったが、+ZnLD 群と +ZnFD 群、-ZnLD 群と -ZnFD 群間には有意な差はみられなかった。肝臓重量は +ZnLD 群が他の 3 群に比べて有意に高かった。肝臓 TG 濃度と肝臓 T-cho 濃度は LD 群と FD 群ともに +Zn 群が -Zn 群に比べて有意に高く、肝臓 TG 濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群は +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低かったが、+ZnLD 群と +ZnFD 群、-ZnLD 群と -ZnFD 群間では有意な差はみられなかった。肝臓 T-cho 濃度は +ZnFD 群が他の 3 群に比べ有意に高かった。

選択摂取期間の総飼料摂取量は -ZnLD 群と -ZnFD 群が +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低かったが、+ZnLD 群と +ZnFD 群、-ZnLD 群と -ZnFD 群間で有意な差はみられなかった。LD 摂取量は +ZnFD 群が最も高く、+ZnLD 群、-ZnLD 群、-ZnFD 群、-ZnLD 群の順に低下した。FD 摂取量は -ZnFD

群が他の 3 群に比べて有意に低かった。このため、選択摂取期間の FD 摂取量は -ZnFD 群が他の 3 群に比べ有意に低くなった。また、各群の LD 摂取量 : FD 摂取量から $n-6/n-3$ 比をもとめると -ZnLD 群は 1.9、-ZnFD 群は 6.6、+ZnLD 群は 2.6、+ZnFD 群は 3.1 となった。+Zn 群は LD 群、FD 群ともに値は約 3 となったが、-Zn 群は LD 群と FD 群で値に大きな差がみられた (Table 16)。選択摂取期間における各週の FD 摂取割合の差を Figure 5 に示した。+Zn 群は LD 群、FD 群ともに 1 週目から 3 週目を通して FD 摂取割合は約 30%であった。しかし、-ZnFD 群の FD 摂取割合はどの週においても低いままであった。また、-ZnLD 群はどの週においても FD 摂取割合は約 50%と高く、-ZnLD 群と -ZnFD 群ではどの週においても有意な差がみられた。

選択摂取期間終了時の体重、後腹壁脂肪組織重量、血漿 Zn 濃度、血漿 TG 濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群は +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べ有意に低かったが、-ZnLD 群と -ZnFD 群、+ZnLD 群と +ZnFD 群間に有意な差は見られなかった。血漿 T-cho 濃度は +ZnLD 群が -ZnLD 群と -ZnFD 群に比べて有意に高かった。血漿グルコース濃度は 4 群間で有意な差はみられなかった。血漿インスリン濃度は +ZnLD 群は -ZnLD 群と -ZnFD 群に比べて有意に高かった。血漿レプチン濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群は +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低く、-ZnLD 群と -ZnFD 群間では有意な差は見られなかったが、+ZnLD 群は +ZnFD 群に比べて有意に高かった。肝臓重量は 4 群間で有意な差はみられなかった。

肝臓 TG 濃度は LD 群と FD 群ともに -Zn 群が +Zn 群に比べて有意に低く、肝臓 T-cho 濃度は 4 群間で有意な差はみられなかった (Table 17)。

第 3 節 考察

本研究では離乳後のラットに Zn を含まない LD と FD をそれぞれ一定期間摂取させた後に LD と FD の選択摂取をさせて、Zn の摂取不足が魚油の嗜好性に影響を与えるか、また、必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響を調べた。体内の Zn 量の指標となる血漿 Zn 濃度は -ZnLD 群と -ZnFD 群が +ZnLD 群と +ZnFD 群に比べて有意に低く、-Zn 群のラットは Zn 欠乏状態であることが確認され、研究 3 の ZnD 群ラットと同様に飼料摂取量の低下、成長遅延といった Zn 欠乏特有の症状がみられた。-Zn 群は LD 群、FD 群ともに総飼料摂取量は +Zn 群に比べて有意に低く、後腹壁脂肪組織重量、血漿と肝臓の TG 濃度は +Zn 群に比べて有意に低かった。-Zn 群は LD 群、FD 群ともに総飼料摂取量は +Zn 群に比べて有意に低く、後腹壁脂肪組織重量、血漿と肝臓の TG 濃度は +Zn 群に比べて有意に低かった。後腹壁脂肪組織重量については -ZnLD 群と -ZnFD 群は実験食摂取期間、選択摂取期間ともに有意差はみられなかったが、+Zn 群は実験食摂取期間には LD 群と FD 群間で有意差がみられ、選択摂取期間になると有意差はみられなくなった。また、実験食摂取期間の肝臓重量は +ZnLD 群が有意に高値であり、肝臓 T-cho 濃度は +ZnFD 群が他の 3 群に

比べ有意に高値であった。しかし選択摂取期間では肝臓重量、肝臓 T-cho 濃度は 4 群間で有意な差はみられなくなった。選択摂取期間の後腹壁脂肪組織重量や肝臓重量、肝臓 T-cho 濃度に有意な差はみられなくなったが、これは実験食摂取期間ではラットは LD と FD のどちらかの飼料を摂取していたが、選択摂取期間では LD と FD の飼料を組み合わせることで選択摂取したためであると推測された。

レプチンは食欲と代謝の調節を行い、エネルギーの取り込みと消費の制御に重要な役割を果たすことが知られている⁵²⁾。研究 3 において、血漿中のレプチン濃度は ZnD 群が他の 2 群よりも有意に低かったが、Zn レベルが 0.9mg/kg であった本研究の -Zn 群のレプチン濃度も +Zn 群に比べ有意に低値であった。Zn の減少は正常なヒト・動物で血中のレプチン濃度を低下させると報告されている^{53, 54)}が、本研究においても低下した。しかし、Zn 欠乏飼料を摂取すると速やかに飼料摂取量が低下したことから、Zn 欠乏により血漿レプチン濃度が低下したとは考えられず、Zn 欠乏による飼料摂取量の低下から脂肪組織量が低下し、血漿レプチン濃度も低下したと考えられた。また、選択摂取期間のレプチン濃度は各群とも実験食摂取期間に比べて上昇したが、-Zn 群は実験食摂取期間に比べて体脂肪量が低下しているにもかかわらずレプチン濃度は上昇した。レプチン濃度は年齢とともに上昇するという報告があり^{55), 56)}、本研究でも同様に年齢とともにレプチン濃度が上昇したとも考えられるが、Zn 不足状態とレ

プチンとの関係性については更なる研究が必要である。

Zn は膵臓のランゲルハンス島の β 細胞中の分泌顆粒中に存在し、インスリンの合成や貯蔵、分泌に関与することがわかっている^{57, 58)}。このため Zn が不足するとインスリンの合成や分泌に影響し、血中のインスリン濃度は低下する。本研究では Zn 欠乏飼料摂取時の摂食量の測定に重点を置いたため、摂食状態で採血を行った。そのため実験食摂取期間のインスリン濃度は SD が大きくなり、- Zn 群と + Zn 群で有意な差がみられなかった。しかし、4 群の血漿グルコース濃度にも有意な差がみられなかったことから、Zn 欠乏食摂取時においても血糖値は一定に調節されていたと推測された。ヒトを対象とした研究で、飽和脂肪酸および一価不飽和脂肪酸の摂取量と空腹時の血中インスリン濃度には正の相関がみられ、魚油摂取量が増加するとラードやシソ油などの摂取時と比べ血中のインスリン濃度は低下することが報告されている⁵⁹⁾。また、所澤ら⁴¹⁾は、紅花油食と魚油食で 16 週間マウスを飼育し、紅花油食を与えると血漿インスリン濃度は上昇するが、魚油食では上昇しないことを報告している。本研究においても、血漿インスリン濃度を + ZnLD 群と + ZnFD 群間で t 検定により比較すると実験食摂取期間は 3 週間であったが + ZnLD 群が + ZnFD 群に比べて高い傾向がみられ ($p = 0.05$)、魚油摂取量の増加によってインスリン濃度は低下することがわかった。さらに、+ ZnLD 群の後腹壁脂肪組織重量と肝臓重量は + ZnFD 群に比べて高値であったこ

とから、+ZnLD 群ではインスリンによる肝臓や脂肪組織へのグルコースの取り込みと TG の合成が亢進していることが推測された。さらに、肝臓で合成された TG は VLDL を形成して血中に運び出され、脂肪組織に蓄積されるため、LD 摂取は肥満を促進するとされている^{41, 60}。-Zn 群においても、LD 群の血漿インスリン濃度は FD 群よりも高い傾向を示したが、($p = 0.05$)、両群ともに摂食量の低下から後腹壁脂肪組織重量は非常に低く、LD 摂取による脂肪の蓄積増加はみられなかった。

第 2 章において、ラットは一定の n-6/n-3 比で油脂を選択摂取する能力を有していることを述べたが、本研究では LD 群、FD 群ともに -Zn 群が選択摂取期間に摂取した総飼料摂取量は +Zn 群の 1/2 以下であった。しかし、Figure 5 に示したように FD 摂取割合は 3 週間を通して -ZnLD 群が最も高く、次いで +ZnLD 群、+ZnFD 群の順となり、-ZnFD 群が最も低かった。さらに各群の FD 摂取割合 : LD 摂取割合から n-6/n-3 比を計算すると +ZnLD 群で 2.6、+ZnFD 群で 3.1、-ZnLD 群で 1.9、-ZnFD 群で 6.6 となった。本研究の +Zn 群の n-6/n-3 比は LD 群、FD 群ともに約 3 となり、研究 1 と同様の結果が得られ、正常なラットは必須脂肪酸を適正な比率で摂取する能力を有していることが確認できた。しかし、Zn が不足すると、LD 群と FD 群ともにその能力が失われることが推測できた。研究 1 では実験食摂取期間を 8 週間と設定したため、+ZnLD 群は不足した n-3 系脂肪酸を補足するのに約 7 日間

を要した。しかし、本研究では Zn 欠乏時の FD 摂取割合を調べることを目的とし、実験食摂取期間を 3 週間に短縮したため、+ ZnLD 群が研究 1 の結果のように n-3 系脂肪酸の不足を補足することは観察できなかったが、Zn を十分に摂取していればラットは必須脂肪酸を過不足なく摂取する能力を持っていることが明らかとなった。

選択摂取期間に - ZnLD 群が選択摂取した飼料の n-6/n-3 比は 1.9 であり、+ ZnLD 群と + ZnFD 群に比べて低かったことから、- ZnLD 群は実験食摂取期間に不足した n-3 系脂肪酸を補足するため、選択摂取期間の FD 摂取割合を高めたと推測された。しかし、Zn 欠乏食を摂取すると 3 ~ 4 日周期で飼料摂取量が変動することが知られており^{61, 62)}、本研究においても - ZnLD 群と - ZnFD 群のラットでは飼料を摂取した日としなかった日が観察された。そのため個体間の変動が大きく、- ZnLD 群と + Zn 群間の FD 摂取割合には有意な差はみられなかった。一方、選択摂取期間に - ZnFD 群が選択摂取した結果、n-6/n-3 比は 6.6 であった。しかし、LD には 20.3%、FD には 17.3% の n-6 系脂肪酸が含まれており、3 週間の実験食摂取期間に - ZnFD 群が n-6 系脂肪酸の不足を補足したとは考えられない。研究 3²⁸⁾において、Zn 欠乏食を摂取すると FD の嗜好性は 4 日後には低下することがわかっている。研究 3 では FD 摂取割合は Zn 摂取量の低下に依存して低下した。本研究において、研究 3 の ZnA 群と同程度の Zn 濃度である 30.7mgZn/kg の飼料を摂取した + ZnLD 群と + ZnFD 群の FD

摂取割合はそれぞれ 32.5%と 26.0%であり、研究 3 の ZnA 群の FD 摂取割合とほぼ一致していた。また、0.7mgZn/kg 飼料を摂取した -ZnFD 群の FD 摂取割合が低かったのは Zn が不足すると FD の嗜好性は低下するという研究 3 と同様の理由によると考えられた。

Zn は脂肪酸代謝に関与しており、Zn 欠乏動物ではアラキドン酸や α -リノレン酸などの必須脂肪酸の β 酸化が促進し、膜や貯蔵脂肪の脂肪酸組成が変わることが報告されている^{22, 27)}。本研究においても、-Zn 群では食欲不振から貯蔵脂肪の分解が亢進し、実験食摂取期間後の後腹壁脂肪組織重量は+Zn 群の 1/10 以下に減少していた。しかし、-ZnLD 群では体脂肪の分解が亢進していたにもかかわらず n-3 系脂肪酸の補給がほとんどできなかった。このため実験食摂取期間後には n-3 系脂肪酸の不足を起こしていたと考えられ、-ZnLD 群が選択摂取期間に高い FD 摂取割合で摂食したのは実験食摂取期間に不足した n-3 系脂肪酸を補足する必要があったからだと推測された。

また、-ZnLD 群は選択摂取期間を通して高い FD 摂取割合を維持し続けた。-ZnLD 群は Zn 欠乏による食欲不振から十分なエネルギー量を摂取していない。そのため、摂取した栄養素はすべてエネルギー源として消費され、膜脂質や貯蔵脂質など体を構成する脂質の補充に利用される割合は極めて少なかった。-ZnLD 群は FD から摂取した n-3 系脂肪酸がエネルギー源として消費されるためにいつまでも n-3 系脂肪酸の補足ができず、その結果、選択摂取

期間を通して高いFD摂取割合となったと推測された。

本研究において、ラットは本来必須脂肪酸の過不足を補足した後は n-6/n-3 比が一定になるように油脂を選択する能力を持っているが、Zn が不足するとその能力が失われると推測された。摂取油脂の選択に Zn がどのように関与しているのか、更なる研究で明らかにする必要がある。

第 6 章 妊娠・授乳期の摂取油脂が離乳後の仔ラットの油脂嗜好性に及ぼす影響

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験材料および試薬等

第 4 章第 1 節第 1 項に示した通りである。

第 2 項 飼料

実験に用いた飼料の組成は Table 18 に示した。AIN-93G に準じた飼料を調製し、FD には魚油、LD にはラード（7g/100g 飼料）を添加した。また、n-6 系脂肪酸の不足を防ぐため、大豆油（3g/100g 飼料）を両飼料に加えた。飼料の油脂量は 10% とした。

第 3 項 実験動物および飼育方法

実験には妊娠確認 3 日目の SD 系ラットを日本チャールス・リバー（株）より購入して用いた。飼育条件は第 2 章第 1 節第 3 項と同様である。

第 4 項 実験計画

ラットは購入後、1 群 4 匹ずつの 2 群にわけ、それぞれ FD と LD で妊娠・授乳期間を通して飼育した。生後 24 時間以内に母親 1 匹当たりの仔ラット数を 10 匹に調整し、21 日齢まで授乳させた。離乳後、仔ラットには FD と LD の選択摂取を 27 日間行わせた。生後 9 日目と 21 日目に 1

匹の母親から2匹（雌雄1匹ずつ）の仔ラットを取り出して解剖し、残りの仔ラットは生後48日目に、母親は仔ラットを離乳した直後に解剖した。

第2章第1節第4項に示す方法で血漿、後腹壁脂肪組織、肝臓を得た。

血漿および肝臓は測定までフリーザーで -80°C で冷凍保存した。

第5項 分析方法

第2章第1節第5項に示す方法で測定を行った。レプチン濃度はELISAキットを和光純薬工業（株）より購入して測定した。

第6項 統計処理

数値は平均±標準偏差（Mean±SD）で示した。2群間の比較はstudentのt検定を用いた。Figure 6の経時変化の比較は二元配置分散分析後、scheffeの多重比較を用いて検定した。いずれも $p < 0.05$ で有意差ありとした。ソフトはエクセル統計2004（社会情報サービス（株））を用いた。

第2節 結果

母親の飼料摂取量と体重、後腹壁脂肪組織重量はFD群とLD群間で有意な差はみられなかった。母親の血漿TG濃度とレプチン濃度はFD群が低かったが、血漿T-cho濃度

には両群間で有意差はみられなかった (Table 19) ($p < 0.05$)。

仔ラットの出生数は FD 群オス 7.5 ± 1.0 匹、メス 6.4 ± 1.5 匹、LD 群オス 6.6 ± 1.4 匹、メス 7.1 ± 0.8 匹であり、摂取油脂により出生数と雌雄差に有意差はみられなかった。出生時体重は FD 群オス 6.9 ± 0.6 g、メス 6.6 ± 0.3 g、LD 群オス 6.6 ± 0.5 g、メス 6.7 ± 0.4 g であり、群間と雌雄間に有意差はみられなかった。生後 9 日目と 21 日目の仔ラットの体重には両群間で有意差はみられなかったが、21 日目仔ラットの後腹壁脂肪組織重量と血漿レプチン濃度は FD 群が低かった。仔ラットの血漿 TG と T-cho 濃度は FD 群が低く、両群ともに 21 日目が 9 日目に比べて低かった (Table 19) ($p < 0.05$)。

授乳期の仔ラットの体重には雌雄差はみられないが、離乳後のオスの体重増加はメスよりも大きいことから、離乳後のデータは雌雄別に示した。選択摂取期間の雌雄仔ラットの総飼料摂取量は、ともに両群間で有意差はみられなかった。雌雄ともに FD 摂取量は FD 群が高く、逆に LD 摂取量は LD 群が高かったので、FD 摂取割合は FD 群が LD 群に比べて高かった (Table 20) ($p < 0.05$)。選択摂取期間の FD 摂取割合の変化をみると、雌雄ともに 1-3 日の FD 摂取割合は約 50% であり、両飼料をほぼ同量ずつ摂取していた。両群の FD 摂取割合は雌雄ともに 6 日目にかけて低下し、7 日目以降の FD 摂取割合はオスの FD 群は約 38%、LD 群は 16% であり、雌雄ともに FD 群が高かった

(Figure 6) ($p < 0.05$)。

選択摂取期間の仔ラットの体重には雌雄ともに両群間で有意差はみられなかった。後腹壁脂肪組織重量は、オス仔ラットでは FD 群が LD 群に比べて低かったが、メス仔ラットでは両群間に有意な差はみられなかった。仔ラットの血漿 TG 濃度は雌雄ともに FD 群が低かったが、T-cho 濃度には両群間で有意差はみられなかった。仔ラットの血漿レプチン濃度は、雌雄ともに FD 群が LD 群に比べて低かった (Table 20)。

第 3 節 考察

離乳直後の 3 日間は、雌雄ともに FD 群と LD 群の仔ラットは両飼料を同量摂取しており、油脂に対する嗜好性は認められなかった (Figure 6)。しかし、離乳後 4-6 日目にかけて、両群ともに FD 摂取割合は低下し、7 日目以降は一定値を維持したので FD の嗜好性は LD よりも低いと考えられた。また、7 日目以降の FD 摂取割合は FD 群が高かったことから、離乳後の油脂の嗜好性は、母親とともに離乳する前に摂取した油脂の影響を受けることが明らかとなった。研究 1⁶⁾において、ラットは一定の必須脂肪酸比率 ($n-6/n-3 \doteq 3.0$) になるように油脂を選択摂取する能力を有しており、離乳後の油脂の摂食歴が長期にわたってもこの能力は失われないことがわかっている。本研究では、離乳前の油脂摂取経験が離乳後の油脂の嗜好性に及ぼす影響を調べた。両群の仔ラットが選択摂取し

た FD 摂取割合から、n-6/n-3 比を求めると、LD 群のオス 3.2、メス 3.1、FD 群のオス 1.9、メス 2.0 であった。この時期の仔ラットは、授乳期に引き続き脳の発育期にあり、DHA 必要量は高いと推測されるが、適正な n-6/n-3 比は確定されていない。しかし、FD 群の n-3 系脂肪酸摂取割合は LD 群より高かったことから FD 群は脳の発育のために十分な量の n-3 系脂肪酸を摂取し、LD 群の FD 摂取割合は低かったが成長に必要な n-3 系脂肪酸量は摂取したと考えられ、両群の体重に有意差はみられなかった (Table 20)。

離乳後の FD 群の FD 摂取量は LD 群より高く、LD 群の LD 摂取量は FD 群より高かった原因の一つとして、仔ラットは母親と一緒に同じ飼料を摂取しており、離乳期に摂取した油脂が離乳後の嗜好性に影響したと考えられた。また、Helland ら⁶³⁾は妊娠・授乳期の母親に、Church ら⁶⁴⁾は妊娠・授乳期ラットに魚油を摂取させ、乳汁の脂肪酸組成は母親が摂取した油脂の脂肪酸組成の影響を受け、魚油を摂取した母親の乳汁の EPA や DHA 濃度は高いことを報告している。また、Keen ら⁶⁵⁾や Del Prado ら⁶⁶⁾はラット乳の脂肪エネルギー比は 70-75% と高く、母親の脂質摂取量が異なっても乳汁のエネルギーの栄養素別構成比 (PFC 比) は変化しないことを報告している。乳汁のみ摂取した 9 日齢ラットの血漿脂質濃度は高かったが、n-3 系脂肪酸量が低い乳汁を飲んだ FD 群の血漿 TG と T-cho 濃度は LD 群より低かったと推測された。21 日齢ラットは乳

汁と一緒に飼料も摂取しており、血漿脂質濃度は 9 日齢仔ラットより低かったが、FD 群の血漿 TG 濃度と T-cho 濃度は LD 群に比べて低かった。しかし、乳汁の脂肪酸組成や血漿脂質濃度の差異が、離乳後の油脂の嗜好性にどのように関与しているかは不明である。

本実験では母親の匹数が少ないこともあり、後腹壁脂肪組織重量には有意差はみられなかったが、血漿レプチン濃度は FD 群が低かった。Korotkova ら^{67), 68)}は n-3 系脂肪酸を摂取した母親の血清レプチン濃度は低いが乳汁の n-3 系脂肪酸量は高く、その乳汁を飲んだ仔ラットの血清レプチン濃度も低いことを報告している。FD 群仔ラットの後腹壁脂肪組織重量と血漿レプチン濃度は LD 群に比べて低かった。

LD 群仔ラットの選択摂取期間の FD 摂取量が低かったことから、離乳直後の仔ラットは摂取経験のある油脂に嗜好性を示した。ヒトも動物も食物選択に対しては保守的な面を持っている。摂取経験がある食物とない食物を選択させれば安心して食べられる食物を選択するのが一般的である。しかし摂取経験のない食物をはじめはかなり警戒していても、その食物に接していれば次第に警戒心は薄れていくはずである。摂取経験のない食物に対する警戒心が薄れたとき、母親の摂取油脂の差異が仔ラットの油脂選択能力にどのように影響するかについては、今後の検討課題である。

第 8 章 総括

近年、若年世代の食事は畜産食品を中心とした高脂肪食へと変化し、魚介類摂取量の低下から、肥満を中心とした生活習慣病の若年化が問題となっている。この原因を解明するために行った油脂の嗜好性に関する先行研究^{4, 5)}において、嗜好性はラード > 大豆油 > 魚油の順に低下することを報告した。本論文では、魚油の嗜好性がラードに比べて低い原因の究明を目的に行った 6 つの研究をまとめて報告する。

第 1 章では、わが国における食生活上の問題点と本研究の関わりを明確にするため、本研究の目的について述べた。

脂質は、高カロリーの栄養素として、また必須脂肪酸である n-6 系と n-3 系脂肪酸の給源として重要である。n-6 系脂肪酸であるリノール酸は種々の植物油に高濃度に含まれており容易に摂取できるが、n-3 系脂肪酸の給源は、EPA や DHA を含む魚介類にほぼ限られている。一方、肉類、乳・乳製品、卵などの動物性食品は良質のたんぱく質源ではあるが、動物性食品の多量摂取は非必須脂肪酸（飽和脂肪酸と一価不飽和脂肪酸）含量の高い動物性脂肪の多量摂取を伴う。動物性脂肪の嗜好性は高いため容易にエネルギーの過剰摂取を引き起こし、体重、体脂肪量の増加を招き、肥満、高脂血症、動脈硬化、心血管疾患発症のリスクが増大する。逆に、魚油に多く含まれる EPA や DHA には血中脂質低下作用や抗炎症作用があり、高脂血症、動脈

硬化、心血管疾患を予防することが知られている³⁷⁻⁴⁰⁾。このように動物脂肪、植物油、魚油に含まれる脂肪酸の種類およびその生理作用は大きく異なっていることから、これらの油脂を適正な比率で摂取する必要がある。先行研究^{4,5)}の結果、動物脂肪の嗜好性に比べて魚油の嗜好性は低かったことから、LDとFDを選択摂取するとFD摂取割合は低いと予測される。若年者において、動物性食品の摂取量が増加し、魚介類摂取量が減少している原因の究明を目的に、次の研究を行った。

研究1では、3群のラットにそれぞれLD、SD、FDを摂取させた後、LDとFDの選択摂取を行わせ、各種油脂の摂食歴がLDとFDの嗜好性に及ぼす影響を検討した。

研究2では、LDを長期間摂取させn-3系脂肪酸不足にしたラットに、実験1ではLDとFDの、実験2ではLDとPDの選択摂取をさせ、シソ油に含まれるALAと魚油に含まれるEPA+DHAの生理作用を比較した。

研究3では、Znは味覚や摂食に関与していることから、飼料のZn量がLDとFDの嗜好性に及ぼす影響を検討した。

研究4では、Zn欠乏飼料の摂取が油脂の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響を検討した。

研究5では、妊娠・授乳期ラットにLDとFDを摂取させた後、仔ラットにLDとFDの選択摂取を行わせ、油脂の嗜好性を検討した。

研究6では、妊娠・授乳期ラットにZn欠乏飼料を摂取

させた後に仔ラットに FD と LD を選択摂取させ、妊娠・授乳期ラットの Zn 欠乏が仔の油脂の嗜好性に及ぼす影響を検討した。

第 2 章では、研究 1 について述べた。

実験には 4 週齢のラットを用い、1 群 16 匹ずつの 3 群に分け、LD 群、SD 群、FD 群とした。3 群のラットにはそれぞれの飼料を与えて 8 週間飼育した後、各群 6 匹ずつを解剖した。残りのラットは LD と FD の選択摂取を 3 週間行わせた後に解剖した。

実験食摂取期間の総飼料摂取量と体重は、3 群間で有意な差はみられなかった。実験食摂取期間終了後の血漿 TG 濃度と T-cho 濃度は FD 群が 3 群中で最も低かった。選択摂取期間の総飼料摂取量には 3 群間で有意な差はみられなかったが、LD 摂取量は FD 群が最も高く LD 群が最も低く、逆に FD 摂取量は LD 群が最も高く LD 群が最も低かった。したがって、FD 摂取割合は LD 群が最も高く、次いで SD 群、FD 群の順に低くなった。選択摂取期間の FD 摂取割合を経時的にみると、選択摂取開始直後の FD 摂取割合は LD 群が最も高く、次いで SD 群、FD 群の順に低かった。しかし、LD 群と SD 群の FD 摂取割合は次第に低下し、FD 摂取群は増加し、選択摂取開始後 3 週目には 3 群の FD 摂取割合に有意な差はみられなくなった。したがって、3 群のラットは実験食摂取期間に不足した脂肪酸を選択摂取開始直後に補足したが、その後は n-6/n-3 比が一定になるよう LD と FD を選択摂取したと考えられ、ラットは不

足した脂肪酸を補足し、さらに必須脂肪酸が不足しないよう油脂を選択摂取する能力を有していると推測された。

第3章では、研究2について述べた。

研究2では2つの実験を行った。LDで長期間飼育しn-3系脂肪酸不足にしたラットに、実験1ではLDとFDを選択摂取させ、実験2ではLDとPDを選択摂取させた。

実験1の結果から、選択摂取開始直後のFD摂取割合はLD群がFD群よりも高かったが、LD群のFD摂取割合は次第に低下しFD群は増加し、両群のFD摂取割合に有意な差はみられなくなった。また実験食摂取期間後に高かったLD群の血漿脂質濃度は、選択摂取期間後には低下し、FD群との間に有意な差はみられなくなった。これらの結果から、LD群のラットはn-3系脂肪酸の不足を補足するためにFDの嗜好性を高め、その結果実験食摂取期間に上昇したLD群の血漿脂質濃度は選択摂取期間後には低下したと推測され、研究1と同様の結果となった。

実験2では、シソ油に含まれるALAにも血漿脂質濃度低下作用があるかどうか、またALAはEPA+DHAと同様にLD摂取によるn-3系脂肪酸不足を補足することができるかどうか調べた。実験食摂取期間終了後の血漿TG濃度とT-cho濃度はLD群とPD群間で有意な差はみられなかったことから、ALAにはEPA+DHAのような血漿脂質低下作用はないと推察された。また、選択摂取期間の総飼料摂取量、LD摂取量、PD摂取量はLD群とPD群間で有意な差はみられなかったことから、ALAはn-3系脂肪酸の不足を補足で

きないと推測された。

第 4 章では、研究 3 について述べた。

研究 3 では、Zn 摂取量の差異が LD と FD の嗜好性に及ぼす影響を、ZnD-LD と ZnD-FD、ZnM-LD と ZnM-FD および ZnA-LD と ZnA-FD を選択摂取させることにより調べた。実験開始直後に FD 摂取割合は一時的に低下したが、ZnM 群と ZnA 群の FD 摂取割合は次第に増加した。しかし ZnD 群の FD 摂取割合は実験期間を通して増加はみられず、選択摂取期間終了時の FD 摂取量は、ZnD 群が 0.5g、ZnM 群が 2.0g、ZnA 群が 4.5g であった。したがって、Zn 不足飼料の摂取により FD の嗜好性が低下することが明らかとなった。

第 5 章では、研究 4 について述べた。

実験には 4 週齢のラットを用い、1 群 16 匹ずつの 4 群に分け、- ZnLD 群、- ZnFD 群、+ ZnLD 群、+ ZnFD 群とした。4 群のラットにはそれぞれの飼料を与えて 3 週間飼育した後、各群 6 匹ずつを解剖した。残りの - Zn 群のラットには - ZnLD と - ZnFD を、+ Zn 群のラットには + ZnLD と + ZnFD の選択摂取を 3 週間行わせた後解剖した。- Zn 群は + Zn 群に比べて血漿 Zn 濃度、飼料摂取量、体重は有意に低く、血漿・肝臓脂質濃度も - Zn 群が有意に低かった。+ Zn 群のラットは両群とも n-6/n-3 比がほぼ 3 となるように LD と FD を選択摂取したが、- Zn 群の n-6/n-3 比は LD 群で 1.9、FD 群で 6.6 となった。したがって、+ Zn 群は一定の n-6/n-3 比で必須脂肪酸を摂取する能力を

有しているが、Zn が不足するとこの能力が消失することが推測された。

第 6 章では、研究 5 について述べた。

妊娠・授乳期の FD と LD の摂取が、離乳後の仔ラットの両油脂の嗜好性に及ぼす影響を調べた。妊娠ラットを 2 群に分け、それぞれ FD と LD で妊娠・授乳期間飼育した。離乳後、両群の仔ラットに FD と LD を同時に与え、両飼料の選択摂取を 27 日間行わせた。両群の仔ラットともに選択摂取開始直後の両飼料摂取量には有意差はみられなかったが、3～6 日目にかけて FD 摂取割合は低下した。7 日目以降の FD 摂取割合は、FD 群の仔ラットのオスが 38%、メスが 32% であり、LD 群の仔ラットのオスが 16%、メスが 17% であり、FD 群が LD 群に比べて高かった。これらの結果から、離乳後の仔ラットの油脂に対する嗜好性は、離乳する前に母親と一緒に摂取した摂取経験のある油脂の影響を受けると推測された。

第 7 章は、本論文の総括である。

n-6 系と n-3 系脂肪酸は体内で合成できないので必須脂肪酸であるが、n-6 系と n-3 系脂肪酸の必要量および摂取比率は確定されていない。第六次改定日本人の栄養所要量では、必須脂肪酸の総量としてエネルギー比で 3% 摂取すれば不足は避けられるとしており、さらに n-6/n-3 比は、日本人が日常的に摂取している脂肪酸構成から、4 が望ましいとしている⁶⁹⁾。日本人の食事摂取基準（2010 年版）¹¹⁾ではこの比は明示されていないが、n-6 系と n-3 系

脂肪酸の推奨量が定められている。推奨量から必須脂肪酸総量と $n-6/n-3$ 比を概算すると従来どおりと推察される。しかし欧米諸国で摂取されている $n-3$ 系脂肪酸量は、わが国の推奨量と比べて非常に少なく、健康維持に対する適正值は不明といわざるを得ない。

実験食摂取後の FD 群の血漿脂質濃度は LD 群および SD 群に比べて低かったが、選択摂取後には LD 群と SD 群の血漿脂質濃度は低下し、FD 群との間に有意な差がみられなくなった。したがって、LD 群と SD 群のラットは、選択摂取開始直後に $n-3$ 系脂肪酸の不足を補足し血漿脂質濃度を低下させた後は、血漿脂質濃度が上昇しないように LD と FD を選択摂取したと考えられたが、その必須脂肪酸比率 ($n-6/n-3$ 比) は約 3 であった。この値は、脂質異常症や動脈硬化を引き起こさず、心疾患予防のために必要な必須脂肪酸比率と考えられ、ラットは適正な $n-6/n-3$ 比で油脂を選択摂取する能力を有していると推測された。

しかし、シソ油に含まれる ALA は、EPA+DHA にみられたような血漿脂質低下作用も、LD 摂取による $n-3$ 系脂肪酸の不足を補足する作用も示さなかった。シソ油は ALA 含量の高い油脂であるが魚油と同等の生理効果を示さなかったことから、脂質異常症、動脈硬化、心疾患予防のためには魚介類の摂取は必要である。

ラットに LD と FD を選択摂取させると適正な $n-6/n-3$ 比になるよう両飼料を摂取する能力を有するが、Zn 量の低い食餌条件下では LD を多量に摂取し、FD の嗜好性は低

下することが明らかになった。また、Zn 欠乏によって一定の n-6/n-3 比で油脂を選択摂取する能力は失われることが明らかとなった。魚油の嗜好性を低下させる要因の一つとして Zn の摂取量低下が挙げられると考えられた。

妊娠・授乳期の母親の摂取する食物の風味は母乳を介して乳児に移行し、離乳期には離乳食を介して乳児の食物の好みは形成されることが報告されており³⁰⁻³²⁾、離乳後の仔ラットの油脂に対する嗜好性は離乳する前に母親と一緒に摂取した摂取経験のある油脂の影響を受けると推測された。魚油に多く含まれる EPA, DHA は血中脂質低下作用や抗炎症作用があり、高脂血症、動脈硬化、心血管疾患を予防する効果があり³⁰⁻³⁴⁾、さらに DHA は網膜や脳神経系の発育や機能に必須の脂肪酸である⁷⁰⁾ことから、仔の FD 摂取は重要である。仔の FD の嗜好性低下による n-3 系脂肪酸摂取不足を防ぐには母親の FD 摂取の低下を防ぐことが必要であると考えられた。

“おいしい食物を食べたい”という願望は、ヒトにも、動物にも、共通した欲求と考えられる。選択摂取期間にラットは“おいしい”と感じた飼料を選択して摂取したと推察されるが、ラットは選択摂取開始後の早い時期には実験食摂取期間に不足した脂肪酸を含む飼料を“おいしい”と感じ、不足した脂肪酸を補足したと推測される。動物と同程度に、ヒトも不足した栄養素を補足する能力を持っているかどうかは不明であるが、同じ食物の摂取が続くと“食べ飽きた”とか“違ったものが食べたい”と欲する

ことも日常経験している。また、不足した脂肪酸を補足した後、LD群、SD群、FD群のラットは、ともに n-6/n-3 比がほぼ 3 になるように LD と FD を選択摂取したが、これ以上に n-3 系脂肪酸比率を上げてても血漿脂質低下作用は増強されないことから、ラットは必要な量の n-3 系脂肪酸を摂取したと推測された。ヒトも、同様の能力を持っている可能性がないとは言い切れない。

また、本研究から、Zn 摂取量の低下が魚油の嗜好性低下の一要因であることが推測された。Zn と n-3 系脂肪酸は遺伝子調節に関与しており、脂質代謝などに関する酵素の発現に影響を与える^{71,72)}。Zn 欠乏の特徴的症狀である食欲不振を引き起こすメカニズムは未だに明らかになっていない。摂取油脂の選択に Zn がどのように関与しているのか、今後の研究で明らかにする必要がある。

謝辞

本論文をまとめるにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜りました聖徳大学大学院人間栄養学研究科・池本真二教授に謹んで感謝いたします。

本研究全般にわたり、ご指導くださいました聖徳大学大学院人間栄養学研究科・中嶋洋子教授に心より深謝いたします。

学位論文審査において、ご指導とご助言を頂きました聖徳大学大学院人間栄養学研究科・加納和孝教授、林徹教授に心より感謝いたします。

実験を行うにあたり、ご指導いただきました聖徳大学人間栄養学部講師・小松崎典子先生に心より感謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生労働省 平成 23 年国民健康・栄養調査報告 Available from:<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoudl/h23-houkoku.pdf> Accessed: Nov. 29
- 2) 松尾達博(2003) 高飽和脂肪食の体脂肪蓄積機構に関する栄養生理学的研究. 日本栄養・食糧学会誌 56:367-387
- 3) 日本栄養・食糧学会監修 (2005)脂質栄養と健康 P14,16,44,建帛社
- 4) 中嶋洋子,横山芽衣子,木戸誉子,下田淳愛(2007)成長期ラットにおける油脂の種類と摂取量の差異が成熟後の脂肪摂取嗜好に及ぼす影響 日本栄養・食糧学会誌 60:97-104
- 5) 中嶋洋子(2006)成長期ラットにおけるラード、大豆油、魚油添加高脂肪食飼料の摂取が成熟後の油脂摂取嗜好に及ぼす影響 日本食物繊維学会誌 10:73-81
- 6) 佐藤明恵、眞田匡代、小松崎典子、中嶋洋子(2009)成長期ラットにおけるラード、大豆油、魚油添加飼料の摂取が成熟後の魚油の嗜好性と必須脂肪酸摂取比率に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 62 : 245-251
- 7) Freese R, Mutanen M. (1997) α -linolenic acid marine long-chain fatty acids differ only in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 66:591-598

- 8) Chan JK, Bruce VM, Mc Donald BE. (1991) Dietary α -linolenic acid is as effective as oleic acid and linoleic acid in lowering blood cholesterol in normolipidemic men. *Am J Clin Nutr* 53:1230-1234
- 9) Layne KS, Goh YK, Jumpsen JR, Ryan EA, Chow P, Clandinin MT. (1996) Normal subject consuming physiological levels of 18:3 n-3 and 20:5 n-3 from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acid levels. *J Nutr*.126:2130-2140
- 10) Nakashima Y, Sato A, Saito M. (2009) Effect of plant-and fish-oil derived n-3 polyunsaturated fatty acids on counteraction of n-3 fatty acid shortage in adult rats fed a lard diet. *J Nutr Sci Vitaminol*. 55:346-352
- 11) 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書(2009)：日本人の食事摂取基準[2010年版] p.227-230 第一出版
- 12) 鈴木継美：日本人のZn摂取量について 栄養学雑誌 44：231-241 (1986)
- 13) 宮田学 亜鉛の吸収と排泄 亜鉛欠乏症の臨床 (2009) p.23-26.
- 14) Hambidge KM, et al (1972) Low levels of zinc in hair, anorexia, poor growth, and hypogeusia in Children. *Pediat Res*. 6:868-874

- 15) Hongo, T et al (1992) Nutritional assessment of a group of japanese elementary school children in tokyo: With special emphasis on growth, anemia, and obesity. *J Nutr Sci Vitam.*38:177
- 16) Ishida et al (1985) Interrelationship of some selected nutritional parameters relevant to taste for salt in a group of college-aged women. *J Nutr Sci Vitam.*31:585
- 17) Shay NF, Mangion HF. (2000) Neurobiology of zinc-influneces eating behavior. *J Nutr.* 130:1493S-1499S.
- 18) 小倉喜一郎 (2000) 亜鉛欠乏ラットの舌微小血管状態および大腿骨の機械的特性 口腔衛生会誌 50: 341-350.
- 19) Ohinata K, Takemoto M, Kawanago M, Fusimi S, Shirakawa H, Goto T, Asakawa A. Komai M. (2009) Orally administrated zinc increases food intake via stimulation in rats. *J Nutr.* 139: 611-616.
- 20) Evansa SA, Overtona JM, Alshingita A, Levenson CW (2004) Regulation of metabolic fate and substrate utilization by zinc deficiency. *Metabolism*53:727-732
- 21) Eder K. Kirchgessner M. (1994) Dietary fat influences the effect of zinc deficiency on liver lipids and fatty acids in rats force-fed equal quantities of diet. *J*

- 22) Eder K, Kirchgessner M. (1994) Level of polyunsaturated fatty acids in tissues from zinc-deficient rats fed a linseed oil diet. *Lipids*. 29: 839-844.
- 23) Villet A, Ravel A, Richard MJ, Alary J, Favier A, Roussel AM. (1997) Fish oil effects on tissular fatty acids and plasma lipid peroxidation in zinc deficient rats. *J Trace Elements Med Biol*. 11: 223-231.
- 24) Cunnane SC, Horrobin DF, Manku MS. (1984) Essential fatty acids in tissue phospholipids and triglycerides of the zinc-deficient rats. *Proc Soc Exp Biol Med*. 177: 441-446.
- 25) Ayala S, Brenner RR. (1983) Essential fatty acid status in zinc deficiency. Effect on lipid and fatty acid composition, desaturation activity and structure of microsomal membranes of rat liver and testis. *Acta Physiol Latinoam*.33: 191-204.
- 26) Clejan S, Castro-Magana M, Collipp PJ, Jonas E, Maddaiah VT. (1982) Effects of zinc deficiency and castration on fatty acid composition and desaturation in rats. *Lipids*. 17: 129-135.
- 27) Cunnane SC, Yang J. (1995) Zinc deficiency impairs whole-body accumulation of polyunsaturates and

- increases the utilization of [1-¹⁴C] linoleate for de novo lipid synthesis in pregnant rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 73: 1246-1252.
- 28) Sato A, Nakashima Y (2011) Rats allowed to Self-select zinc-deficient lard and fish-oil diets did not develop a preference for fish-oil diet. *J Nutr Sci Vitaminol.* 57:156-161
- 29) 佐藤明恵、中嶋洋子 (2013) 亜鉛の摂取不足がラットのラード食と魚油食の嗜好性に及ぼす影響 日本栄養・食糧学会誌 66:25-33
- 30) Mennella JA, Forestell CA, Morgan LK, Beauchamp GK (2009) Early milk feeding influence taste acceptance and liking during infancy. *Am J Clin Nutr.* 90: 780S-8S
- 31) Mennella JA, Griffin CE, Beauchamp GK (2004) Flavor programming during infancy. *Pediatrics.* 113:840-5
- 32) Galef BG Jr, Henderson PW (1972) Mother's milk : A determination of the feeding preference of weaning rat pups. *J Comp Physiol Psychol.* 78:213-9
- 33) 中嶋洋子、佐藤明恵 (2010) 妊娠・授乳期の母ラットの食餌油脂が離乳後の仔ラットの油脂摂取嗜好性に及ぼす影響 日本栄養・食糧学会誌 63:247-252
- 34) American Institute of Nutrition. (1993) AIN-93G

purified diets for laboratory rodents: final reports of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformation of the AIN-73A rodent diet. *J Nutr.* 123:1939-1951

- 35) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. (1957) A simple methods for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226:497-509
- 36) Morisson WR, Smith LM (1964) Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl-acethyl from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res.* 5:600-608
- 37) Grimsgaard S, Bonna KH, Hansen JB, Norboy A (1997) Highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in humans have similar triacylglycerol-lowering effects but divergent effects on serum fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 66 : 649-659
- 38) Breslow JL (2006) n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 83 : 1477S-1482S
- 39) Helland IB, Saugstad OD, Saarem K, Van Houwelingen AC, Nylander G, Drevon CA (2006) Supplementation of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation reduces maternal plasma

- lipid levels and provides DHA to the infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 19 : 397-406
- 40) Le Jossic-Corcus C, Gonthier C, Zaghini I, Logette E, Scechter I, Bournot P (2005) Hepatic farnesyl diphosphate synthase expression is suppressed by polyunsaturated fatty acids. *Biochem J.* 385 : 787-794
- 41) 所澤千香子、佐野佳代、笠岡宣代 (2008) 魚油によるマウスの体脂肪蓄積抑制効果に対する脂肪摂取量の影響. 栄養学雑誌 66: 181-188
- 42) Jump DB, Clarke SD (1999) Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu Rev Nutr.* 19 : 63-69
- 43) Deckelbaum RJ, Worgall TS, Seo T (2006) n-3 Fatty acids and gene expression. *Am J Clin Nutr.* 83 :1520S-1525S
- 44) Nakatani T, Kim HJ, Kaburagi Y, Yasuda K, Esaki O (2003) A low fish oil inhibits SREBP-1 proteolytic cascade, while a high-fish-oil feeding decreases SREBP-1 mRNA in mice liver: relationship to anti-obesity. *J Lipid Res.* 44: 369-379
- 45) 林淳三監修 (2003) 人体の構造と機能 生化学, p122-124. 建帛社
- 46) Finnergen YE, Minihane AM, Leigh-Firbank EC, Kew S, Meijer GW, Muggli R, Calder PC, Williams CM

(2003) Plant- and marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids have differential effects on fasting and postprandial blood lipid concentrations and on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hyperlipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 77 : 783-795

- 47) Barceleo - Coblijin G, Murphy EJ, Othman R, Moghadasian MH, Kashour T, Friel JK (2008) Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing sources of n-3 fatty acid. *Am J Clin Nutr.* 88: 801-809
- 48) Connor WE (2000) Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am J Clin Nutr.* 71: 171S-175S
- 49) Eumken EA, Adlof RO, Gulley RM (1994) Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic acid and linolenic acids in young adult males. *Biochem Biophys Acta.* 1213:277-288
- 50) Haase H, Maret W (2003) Intracellular zinc fluctuations modulate protein tyrosine phosphatase activity in insulin/insulin-like growth factor-1 signaling. *Exp Cell Res.* 291: 289-298
- 51) Park AJ, Bloom SR (2005) Neuroendocrine control of food intake. *Curr Opin Gastrointestinal.* 21: 228-

- 52) Friedman LM, Halaas L (1998) Leptin and theregulation of body weight in mammals. *Nature*. 395: 763-770
- 53) Gorozissis K (2004) Brain insulin and feeding; a bi-directional communication. *Eur J Pharmacol*. 490: 59-70
- 54) Mantzoros CS, Prasad AS, Beck FW, Grabowski S, Kaplan J, Adair C, Brewer GJ (1998) Zinc may regulate serum leptin concentrations in humans. *J Am Coll Nutr*. 17: 270-5
- 55) Mangian HF, Lee RG, Paul GL, Emmert JL, Shay NF (1998) Zinc deficiency suppresses plasma leptin concentrations in rats. *J Nutr Biochem*. 9: 47-51
- 56) Garcia-Mayo RV, Andrade MA, Rios M, Lage M, Dieguez C, Casanueva FF (1997) Serum leptin levels in normal children: Relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones, and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab*. 82:2849-55
- 57) Ahmed ML, Ong KK, Morrell DJ, Cox L, Drayer N, Perry L, Preece MA, Dunger DB (1999) Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex differences and relationship to changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 84: 899-905
- 58) Hsu LM, Duckett GE, Hsieh HS, Root AM (1980)

Zinc deficiency and insulin release. *Fed Proc.*
39:430.

- 59) Gerozissis K (2004) Brain insulin and feeding : a bidirectional communication. *Eur J Pharmacol.*
490:59-70
- 60) Marshall JA, Bessesen DH, Hamman RF (1997) High saturated fat and low starch and fibre are associated with hyperinsulinaemia in a non-diabetic population: The San Luis Valley Diabetes Study. *Diabetologia.* 40: 430-8
- 61) Tamaki N, Fujimoto-Sakata S, Kikugawa M, Kaneko M, Onosaka S (1995) Analysis of cyclic feed intake of rats fed on a zinc-deficient diet and the level of dihydropyrimidinase. *Br J Nutr.* 68:505-14
- 62) Ohinata K, Takemoto M, Kawanago M, Fushimi S, Shirakawa H, Goto T, Asakawa A, Komai M (2009) Orally administered zinc increases food intake via vagal stimulation in rats. *J Nutr.* 139: 611-6
- 63) Helland IB, Smith L, Saaram K, Saugstad OD, Drevon CA (2003) 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: 39-44
- 64) Church MV, Jen KLC, Dowhan LM, Adams BR, Hotra JW (2008) Excess and deficient omega-3 fatty acid

- during pregnancy and lactation cause impaired neural transmission in rat pups. *Neurotoxicol Teratol.* 30: 107-17
- 65) Keen CL, Lonnerdal B, Clegg M, Hurley LS (1981) Developmental changes in composition of rat milk: Trace elements, mineral, protein, carbohydrate and fat. *J Nutr.* 111:226-30
- 66) Del Prado M, Delgado G, Villalpando S (1997) Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats. *J Nutr.* 127: 458-62
- 67) Korotkova M, Gabrielsson B, Lonn M, Hanson L, Strandvik B (2002) Leptin levels in rat offspring are modified by the ratio of linoleic to α -linolenic acid in the maternal diet. *J Lipid Res.* 43: 1743-9
- 68) Korotkova M, Gabrielsson B, Hanson L, Strandvik B (2001) Maternal essential fatty acid deficiency depresses serum leptin levels in suckling rat pups. *J Lipid Res.* 42: 359-65
- 69) 健康・栄養情報研究会 編集 (1999) 第6次改定 日本人の栄養所要量 食事摂取基準 p56. 第一出版
- 70) 京都健康フォーラム監修 (2013) 人と食と自然シリーズ3 脂肪の功罪と健康 生化学, p38-39. 建帛社
- 71) Weigand E, Boesch-saadatmandi C (2011)

Interaction between marginal zinc and high fat supply on lipid metabolism and growth of weanling rats. *Lipids*. 10:1007

- 72) Deckelbaum RJ, Worgall TS, Seo T (2006) n-3 Fatty acids and gene expression. *Am J Clin Nutr*. 83:1520-25S

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
Fat ²	7.0
Cellulose	5.0
Mineral mixture ³	3.5
Vitamin mixture ³	1.0
Choline bitartrate	0.25
Tert-butylhydroquinone	0.0014

¹Diet components were purchased from Oriental Yeast Co., Ltd.

²Fat: soybean oil (soybean-oil diet), lard (lard diet) or fish-oil (fish-oil diet).

³Mineral mixture and Vitamin mixture were based on the AIN-93G formation. Fish-oil diet was freshly prepared each day to avoid oxidation of the lipids.

Table 2. Fatty acid composition of the experimental diets.

Fatty acids	Soybean-oil diet	Lard diet	Fish-oil diet
	% of total fatty acids by weight		
14:0	-	1.3	5.0
15:0	-	-	0.2
16:0	11.2	22.1	18.9
16:1	-	1.8	-
16:2	-	-	6.3
18:0	2.5	12.6	2.3
18:1 (n-9)	25.8	35.9	22.6
18:2 (n-6)	52.5	22.4	16.8
18:3 (n-3)	7.5	3.1	2.3
18:4 (n-3)	-	-	1.9
20:0	0.4	0.3	0.6
20:1 (n-9)	-	-	1.3
20:4 (n-6)	-	0.2	0.5
20:5 (n-3)	-	-	10.2
22:1 (n-9)	-	-	1.9
22:5 (n-3)	-	-	1.1
22:6 (n-3)	-	-	7.6
Unknown	0.1	0.3	0.5
Total n-6	52.5	22.4	18.1
Total n-3	7.5	3.1	23.1
n-6/n-3	7.0	7.2	0.78

Table 3. Food intake, body, liver, and fat tissue weights and plasma and liver lipid concentrations after dietary treatment period for 8 weeks.

Group	Soybean-oil diet	Lard diet	Fish-oil diet
Total food intake (g/8 wk)	532±33	542±34	553±11
Body weight (g)	236±16	235±17	241±8
Liver weight (g/100g)	3.28±0.16 ^a	3.33±0.16 ^{ab}	3.56±0.14 ^b
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	0.98±0.14	1.05±0.18	0.96±0.08
Plasma lipids (mg/dL)			
Triacylglycerol	116±36.0 ^{ab}	158±47.6 ^a	84.7±24.5 ^b
Total-cholesterol	80.8±3.2 ^a	82.0±7.9 ^a	66.7±6.9 ^b
Liver lipids (mg/g)			
Triacylglycerol	6.34±1.76	6.44±1.45	6.76±1.69
Total-cholesterol	1.27±0.16 ^a	1.14±0.13 ^a	1.52±0.17 ^b

Values represent mean±SD, n=6. Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$

Table 4. Food intake, body liver, and fat tissue weights and plasma and liver lipid concentrations after self-selection period for 3 weeks.

Group	Soybean-oil diet	Lard diet	Fish-oil diet
Food intake (g/3 wk)	267±13	273±12	276±25
Lard diet intake (g/3 wk)	206±14 ^{ab}	196±17 ^a	225±25 ^b
Fish-oil diet intake (g/3 wk)	61±10 ^{ab}	77±11 ^a	48±15 ^b
Ratio of fish-oil diet intake (%)	23±6 ^{ab}	28±5 ^a	17±7 ^b
Body weight (g)	282±16	281±17	285±21
Liver weight (g/100g)	3.13±0.10	3.32±0.15	3.11±0.11
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	1.21±0.14	1.33±0.18	1.28±0.22
Plasma lipids (mg/dL)			
Triacylglycerol	61.3±19.2	92.6±30.3	79.8±31.2
Total-cholesterol	58.2±5.1	60.6±8.2	64.4±9.1
Liver lipids (mg/g)			
Triacylglycerol	4.36±1.68	4.83±0.86	5.15±0.98
Total-cholesterol	1.13±0.07 ^{ab}	1.06±0.12 ^a	1.27±0.23 ^b

Values represent mean±SD. n=10. Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$

Table 5. Composition of the experimental diets.¹

Ingredient	(g/100g)
Casein	20.0
L-Cystine	0.3
Cornstarch	49.9486
Sucrose	10.0
Soybean oil	3.0
Fat ²	7.0
Cellulose	5.0
Mineral mixture ³	3.5
Vitamin mixture ³	1.0
Choline bitartrate	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014

¹Diet components were purchased from Oriental Yeast Co., Ltd.

² Fat: lard (lard diet), fish-oil (fish-oil diet) or perilla-oil (perilla-oil diet).

³Mineral mixture and vitamin mixture were based on the AIN-93G formation.

Fish-oil diet and perilla-oil diet were freshly prepared every day to avoid oxidation of the lipids.

Table 6 Fatty acid composition of the diets (% of total fatty acids). ¹

Fatty acids	Lard diet	Fish-oil diet	Perilla-oil diet
14:0	0.9	5.3	-
15:0	-	0.2	-
16:0	25.2	15.0	7.1
16:1	1.1	-	4.3
16:2	-	6.4	-
17:0	0.3	0.8	-
18:0	12.8	2.8	2.5
18:1(n-9)	34.1	16.1	16.5
18:2(n-6)	22.1	17.7	24.6
18:3(n-3)	3.1	2.8	44.4
18:4(n-3)	-	2.6	-
20:0	0.1	0.3	0.1
20:1(n-9)	-	3.5	0.3
20:4(n-6)	-	0.7	-
20:4(n-3)	-	0.6	-
20:5(n-3)	-	11.8	-
22:0	0.1	0.1	0.1
22:1(n-9)	-	2.9	-
22:5(n-3)	-	1.6	-
22:6(n-3)	-	7.1	-
24:1	-	1.1	-
Unknown	0.2	0.7	0.1
Total n-6	22.1	18.4	24.6
Total n-3	3.1	26.5	44.4
n-6/n-3	7.13	0.69	0.51

¹Fatty acid composition of soybean oil: Standard tables of food composition in Japan,

Fatty acid composition of lard and fish-oil: Oil Chem 3: 119-122 (1967).

Fatty acid composition of perilla oil: data from Benibana Foods Co., Ltd

Table 7. Food intake, body, liver and fat tissue weights and plasma and liver lipid concentrations of rats fed lard diet and fish-oil diet. ¹

Group	Lard diet	Fish-oil diet
After dietary treatment period for 6 wk		
N	6	6
Food intake (g/6 wk)	551±14	548±31
Body weight (g)	239±13	235±19
Liver weight (g /100g)	3.32±0.17	3.56±0.14
Perirenal fat tissue weight (g /100g)	0.98±0.15	0.96±0.08
Plasma lipids (mg/dL)		
Triacylglycerol	160.1±46.1 ^a	83.3±25.6 ^b
Total-cholesterol	84.2±7.7 ^a	66.8±5.5 ^b
Liver lipids (mg/g)		
Triacylglycerol	5.99±1.35	6.53±1.58
Total-cholesterol	1.11±0.12 ^a	1.54±0.18 ^b
After self-selection period for 3 wk		
N	10	10
Food intake (g/ 3 wk)	277±15	275±26
Lard diet intake (g/ 3 wk)	194±25 ^a	230±33 ^b
Fish-oil diet intake (g/ 3 wk)	78±16 ^a	47±12 ^b
Ratio of fish-oil diet intake (%)	28.7±4.3 ^a	17.0±6.8 ^b
Body weight (g)	286±19	282±13
Liver weight (g /100g)	3.30±0.12	3.18±0.14
Perirenal fat tissue weight (g /100g)	1.34±0.16	1.29±0.23
Plasma lipids (mg/dL)		
Triacylglycerol	90.1±33.1	77.6±24.5
Total-cholesterol	72.6±6.5	64.1±7.9
Liver lipids (mg/g)		
Triacylglycerol	4.99±1.07	6.83±0.92
Total-cholesterol	1.29±0.16	1.35±0.24

¹Values represent mean± SD. Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 8. Food intake, body, liver and fat tissue weights and plasma and liver lipid concentrations of rats fed lard diet and perilla-oil diet.¹

Group	Lard diet	Perilla-oil diet
After dietary treatment period for 6 wk		
N	6	6
Food intake (g/3 wk)	548±37	550±19
Body weight (g)	237±18	238±21
Liver weight (g/100g)	3.38±0.19	3.36±0.18
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	1.02±0.24	1.07±0.14
Plasma lipids (mg/dl)		
Triacylglycerol	165±41	134±34
Total-cholesterol	82.2±11.5	69.6±5.9
Liver lipids (mg/g)		
Triacylglycerol	6.54±1.02	7.65±1.54
Total-cholesterol	1.15±0.05 ^a	1.34±0.12 ^b
After self-selection period for 3 wk		
N	12	12
Food intake (g/3 wk)	282±21	275±15
Lard diet intake (g/3 wk)	190±27	194±21
Fish-oil diet intake (g/3 wk)	92±12	81±14
Ratio of fish-oil diet intake (%)	32.6±4.3	29.5±5.7
Body weight (g)	285±19	282±17
Liver weight (g/100g)	3.35±0.24	3.28±0.16
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	1.33±0.18	1.28±0.22
Plasma lipids (mg/dL)		
Triacylglycerol	132±32	117±24
Total-cholesterol	68.2±8.1	62.0±5.4
Liver lipids (mg/g)		
Triacylglycerol	6.81±0.89	7.71±1.66
Total-cholesterol	1.22±0.31	1.28±0.27

¹Values represent mean± SD, Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$

Table 9. Composition of the experimental diets.

Ingredient	Lard diet (g/100g)	Fish-oil diet ³ (g/100g)
Egg albumin	20.0	20.0
L-Cystine	0.3	0.3
Cornstarch	49.9482	49.9482
Sucrose	10.0	10.0
Soybean-oil	3.0	3.0
Lard	7.0	-
Fish-oil	-	7.0
Cellulose	5.0	5.0
Mineral mixture (-Zn) ¹	3.5	3.5
Vitamin mixture ²	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.25	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014	0.0014
Biotin	0.0004	0.0004

¹Mineral mixture (-Zn):ZnCO₃ was omitted from AIN-93G mineral mixture.

²Vitamin mixture was based on the AIN-93G formulation.

³Fish-oil diet was freshly prepared every day to avoid oxidation of the fish-oil.

Table 10. Fatty acid composition of the diets (%of total fatty acids)

Fatty acid	Lard diet	Fish-oil diet
	% of total fatty acids by weight	
14:0	1.3	5.0
15:0	-	0.2
16:0	22.1	18.9
16:1	1.8	-
16:2	-	6.3
18:0	12.6	2.3
18:1 (n-9)	35.9	22.6
18:2(n-6)	22.4	16.8
18:3(n-3)	3.1	2.3
18:4(n-3)	-	1.9
20:0	0.3	0.6
20:1(n-9)	-	1.3
20:4(n-6)	0.2	0.5
20:5(n-3)	-	10.2
22:1(n-9)	-	1.9
22:5(n-3)	-	1.1
22:6(n-3)	-	7.6
Unknown	0.3	0.5
Total n-6	22.4	18.1
Total n-3	3.1	23.1
n-6/n-3	7.2	0.78

Table 11. Food intake and ratio of fish-oil diet intake of groups fed the ZnD, the ZnM or the ZnA diet for 24 days.

Group	ZnD	ZnM	ZnA
Total food intake (g/24d)	162±5 ^a	235±9 ^b	243±9 ^b
Lard diet intake (g/24 d)	150±8 ^a	192±16 ^b	172±16 ^b
Fish-oil diet intake (g/24 d)	12±5 ^a	43±9 ^b	71±16 ^c
Ratio of fish-oil diet intake (%)	7.5±3.3 ^a	18.4±4.5 ^b	29.0±4.4 ^c
Energy efficiency ratio (g gain/kcal energy)	0.045±0.002 ^a	0.099±0.005 ^b	0.096±0.004 ^b

Values represent mean± SD, n=6.

Values with different superscript are significantly different, $p < 0.05$

Table 12. Body, liver and fat tissue weights of groups fed the ZnD, the ZnM or the ZnA diet for 24 days.

Group	ZnD	ZnM	ZnA
Initial body weight (g)	60.3±4.2	60.9±3.6	59.7±3.5
Final body weight (g)	90±3 ^a	156±4 ^b	155±4 ^b
Perirenal adipose white tissue weight (g/100g)	0.12±0.04 ^a	0.58±0.12 ^b	0.65±0.08 ^b
Liver			
Weight (g/100g)	3.55±0.28	3.64±0.03	3.86±0.23
Triacylglycerol (mg/g)	6.94±4.07 ^a	11.03±0.89 ^b	13.00±1.61 ^b
Total-cholesterol (mg/g)	2.40±0.44 ^a	3.15±0.29 ^b	3.27±0.19 ^b
Plasma concentration			
Zinc (µg/dL)	47±10 ^a	111±27 ^b	253±47 ^c
Triacylglycerol (mg/dL)	19.4±10.0 ^a	56.5±19.1 ^{ab}	90.7±34.6 ^b
Total-cholesterol (mg/dL)	78.9±14.1 ^a	96.5±15.1 ^b	107.3±26.9 ^b
Insulin (ng/mL)	0.98±0.25	1.17±0.57	1.46±0.32
Leptin (ng/mL)	1.51±0.10 ^a	2.42±0.36 ^b	2.81±0.36 ^b

Values are expressed as mean± SD, n=6

Values with different superscripts are significantly different, $p < 0.05$

Table 13. Composition of the diets.¹

Ingredient(g/100g)	+ ZnLD	+ ZnFD ³	- ZnLD	- ZnFD ³
Egg albumin	20.0	20.0	20.0	20.0
L-Cystine	0.3	0.3	0.3	0.3
Cornstarch	36.7482	36.7482	36.7482	36.7482
α- Cornstarch	13.2	13.2	13.2	13.2
Sucrose	10.0	10.0	10.0	10.0
Soybean-oil	3.0	3.0	3.0	3.0
Lard	7.0		7.0	
Fish-oil		7.0		7.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture(+ Zn)	3.5	3.5		
Mineral mixture (- Zn) ¹			3.5	3.5
Vitamin mixture ²	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
Tert-butylhydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014
Biotine	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004

¹Mineral mixture (-Zn):ZnCO₃ was omitted from AIN-93G mineral mixture.

²Vitamin mixture was based on the AIN-93G formation.

³Fish-oil diet was freshly prepared every day to avoid oxidation of the fish-oil.

Table 14. Fatty acid composition of the diets (%of total fatty acids).

Fatty acid	Lard diet	Fish-oil diet
14:0	1.3	3.0
15:1	-	0.3
16:0	23.2	20.5
16:1	1.6	-
16:2	-	3.9
17:0	0.1	0.3
18:0	13.3	2.9
18:1(n-9)	37.6	21.0
18:2(n-6)	20.1	16.7
18:3(n-3)	2.1	1.3
20:0	0.1	0.1
20:1(n-9)	0.4	5.5
20:4(n-6)	0.2	0.6
20:5	-	5.7
22:1(n-9)	-	5.8
22:4(n-9)	-	0.2
22:5(n-3)	-	1.1
22:6(n-3)	-	10.4
Unknown	0.0	0.7
Total n-6	20.3	17.3
Total n-3	2.1	18.5
n-6/n-3	9.7	0.9

Table 15. Food intake, body, liver and perirenal fat tissue weights and plasma zinc, lipid, glucose, hormone and liver lipid concentrations during experimental period.

Group	+ZnLD	+ZnFD	-ZnLD	-ZnFD
Total food intake (g/21days)	187.3±7.4 ^a	185.6±9.1 ^a	114.8±14.3 ^b	107.8±4.1 ^b
Body weight (g)	142.2±8.2 ^a	145.1±9.5 ^a	84.0±9.6 ^b	79.2±4.2 ^b
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	0.67±0.10 ^a	0.52±0.07 ^b	0.06±0.06 ^c	0.02±0.05 ^c
Plasma concentration				
Zinc (µg/dL)	239.5±82.3 ^a	216.0±39.0 ^a	60.0±30.4 ^b	56.2±16.6 ^b
Triacylglycerol (mg/dL)	133.2±50.1 ^a	128.5±15.1 ^a	20.0±2.1 ^b	10.5±2.5 ^b
Total-cholesterol (g/dL)	113.2±38.8 ^a	128.0±29.5 ^a	80.8±19.1 ^{ab}	53.9±20.0 ^b
Glucose (mg/dL)	152.0±81.2	198.9±69.7	138.2±34.6	121.3±46.7
Insulin (ng/mL)	2.73±1.56	1.25±0.47	1.53±0.62	0.95±0.14
Leptin (ng/mL)	1.24±0.21 ^a	1.12±0.18 ^a	0.61±0.03 ^b	0.57±0.02 ^b
Liver				
Weight(g/100g)	4.66±0.40 ^a	3.86±0.34 ^b	3.83±0.35 ^b	3.71±0.36 ^b
Triacylglycerol(mg/g)	11.08±2.68 ^a	11.39±2.71 ^a	6.25±2.19 ^b	4.59±2.06 ^b
Total-cholesterol(mg/g)	2.43±0.56 ^a	3.19±0.49 ^b	2.21±0.3 ^a	2.43±0.14 ^a

Values represent mean±SD, n=6

Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 16. Food intake and ratio of fish-oil diet intake to total diet intake during self-selection period.

group	+ ZnLD	+ ZnFD	- ZnLD	- ZnFD
Total food intake (g/21days)	225.5±15.1 ^a	239.9±14.2 ^a	103.9±10.6 ^b	104.9±4.8 ^b
Lard diet intake (g/21days)	152.6±26.7 ^a	177.4±12.8 ^b	54.3±34.2 ^c	98.9±9.2 ^d
Fish-oil diet intake (g/21days)	72.9±25.1 ^a	62.4±14.8 ^a	49.6±33.0 ^a	6.1±6.2 ^b
Ratio of fish-oil diet intake (%)	32.5±11.1 ^a	26.0±4.7 ^a	47.8±35.8 ^a	5.8±6.5 ^b
n-6/n-3	2.6	3.1	1.9	6.6

Values represent mean± SD, n=10

Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$

Table 17. Body, liver and perirenal fat tissue weights and plasma zinc, lipid, glucose, hormone and liver lipid concentrations during self-selection period.

group	+ ZnLD	+ ZnFD	- ZnLD	- ZnFD
Body weight (g)	201.1±10.7 ^a	209.7±12.0 ^a	81.7±10.9 ^b	78.2±4.3 ^b
Perirenal fat tissue weight (g/100g)	1.39±0.32 ^a	1.17±0.18 ^a	0.03±0.02 ^b	0.03±0.02 ^b
Plasma concentration				
Zinc (µg/dL)	407.2±86.6 ^a	338.9±81.9 ^a	89.4±36.2 ^b	82.2±40.7 ^b
Triacylglycerol (mg/dL)	108.2±38.2 ^a	120.0±36.1 ^a	21.3±10.8 ^b	18.7±7.5 ^b
Total-cholesterol (mg/dL)	136.5±55.7 ^a	99.4±15.7 ^{ab}	80.1±13.9 ^b	91.5±20.9 ^b
Glucose (mg/dL)	161.2±33.7	173.2±34.7	145.7±31.5	139.7±20.4
Insulin (ng/mL)	3.23±1.37 ^a	2.76±1.03 ^{ab}	1.68±0.39 ^b	1.67±0.50 ^b
Leptin (ng/mL)	3.63±1.09 ^a	2.67±0.73 ^b	1.46±0.29 ^c	1.40±0.32 ^c
Liver				
Weight (g/100g)	3.55±0.20	3.64±0.25	3.78±0.60	3.67±0.35
Triacylglycerol (mg/g)	12.16±2.24 ^a	12.69±4.46 ^a	6.62±3.78 ^b	5.21±2.22 ^b
Total-cholesterol (mg/g)	2.51±0.22	2.52±0.41	2.26±0.15	2.24±0.32

Values represent mean± SD, n=10

Within a row, values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$

Table 18. The composition of experimental diets.

Ingredient	(g/100g)
Casein	20.0
L-Cystine	0.3
Cornstarch	49.9486
Sucrose	10.0
Soybean oil	3.0
Fat ²	7.0
Cellulose	5.0
Mineral mixture ³	3.5
Vitamin mixture ³	1.0
Choline bitartrate	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014

¹Diet components were purchased from the Oriental Yeast Co., Ltd.

²Fat: lard (lard diet) or fish-oil (fish-oil diet).

Fish-oil diet was freshly prepared every day to avoid oxidation of the lipids.

³Mineral mixture and vitamin mixture were based on the AIN-93G formation.

Table 19. Effect of diet on food intake, body and perirenal fat tissue weights and plasma lipid and hormone concentrations and their suckling pups.

Group	Lard diet	Fish-oil diet
Dams		
Food intake (g) *	1457±123	1399±104
Final body weight (g)	287±23	279±20
Perirenal fat tissue weight (g/100g body wt)	0.82±0.29	0.59±0.14
Plasma concentration		
Triacylglycerol (mg/dL)	89.6±15.2	54.4±5.7*
Total-cholesterol (mg/dL)	74.2±8.5	69.7±5.8
Leptin (ng/mL)	3.95±0.66	2.67±0.35*
Suckling pups		
9 day of age		
Body weight (g)	20.3±1.5	19.8±1.2
Plasma concentration		
Triacylglycerol (mg/dL)	285±36	175±24*
Total-cholesterol (mg/dL)	192±18	146±12*
21 day of age		
Body weight (g)	59.6±3.8	58.4±3.2
Perirenal fat tissue weight (g/100g body wt)	1.08±0.17	0.74±0.09*
Plasma concentration		
Triacylglycerol (mg/dL)	157±24	95±11*
Total-cholesterol (mg/dL)	124±9	106±10*
Leptin (ng/mL)	1.04±0.29	0.74±0.25*

Values represent mean±SD. Dams (n=4). Suckling pups (n=8).

Significantly different from the lard diet group (p<0.05).

Pups were weaned at day 21 of age.

* Total amount of food intake during pregnancy and lactation.

Table 20. Food intake, body and perirenal fat tissue weights and plasma lipid and hormone concentrations of weaning pups at 48th day after birth nursed by dams fed either lard diet or fish-oil diet.

Group	Lard diet	Fish-oil diet
Male		
Total food intake (g/27 days)	369±40	386±32
Fish-oil diet intake (g/27 days)	66±12	151±16*
Lard diet intake (g/27 days)	303±34	235±30*
Ratio of fish-oil diet intake (%)	18±5	39±9*
Final body weight (g)	296±12	289±16
Perirenal fat tissue weight (g/100g body wt)	0.89±0.21	0.53±0.18*
Plasma concentration		
Triacylglycerol (mg/dL)	82.1±10.7	60.5±7.9*
Total-cholesterol (mg/dL)	65.4±3.8	58.9±6.4
Leptin (ng/mL)	3.48±0.53	2.75±0.39*
Female		
Total food intake (g/27 days)	344±25	336±33
Fish-oil diet intake (g/27 days)	64±11	114±13*
Lard diet intake (g/27 days)	272±29	230±21*
Ratio of fish-oil diet intake (%)	19±3	33±4*
Final body weight (g)	247±20	251±23
Perirenal fat tissue weight (g/100g body wt)	0.74±0.2	0.49±0.16
Plasma concentration		
Triacylglycerol (mg/dL)	65.3±8.0	48.6±5.4*
Total-cholesterol (mg/dL)	62.4±5.2	55.3±3.6
Leptin (ng/mL)	2.89±0.34	2.04±0.41*

Values represent mean±SD. n=12.

*Significantly different from the lard diet group ($p < 0.05$)

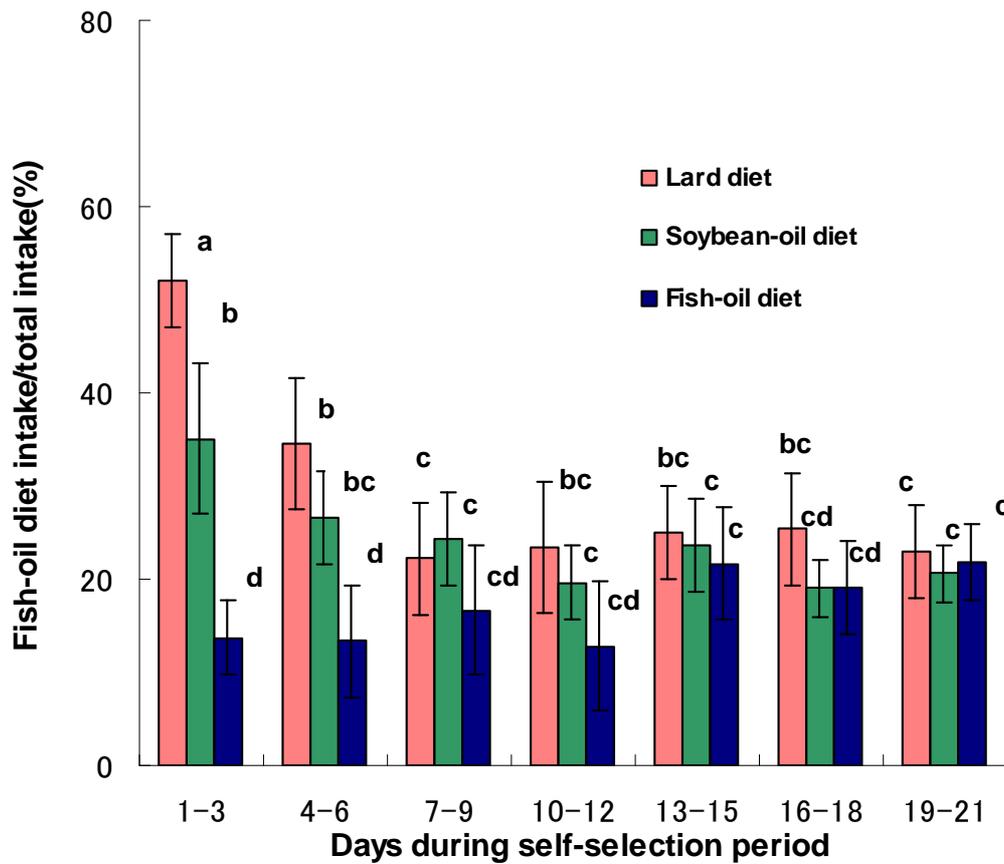


Figure 1. Ratio of fish-oil diet intake to total intake of groups fed lard diet, soybean-oil diet or fish-oil diet during self-selection period for 3 weeks after being fed lard diet, soybean-oil diet or fish-oil diet, respectively, for 8 weeks. Values are expressed as mean \pm SD (n=10) Values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

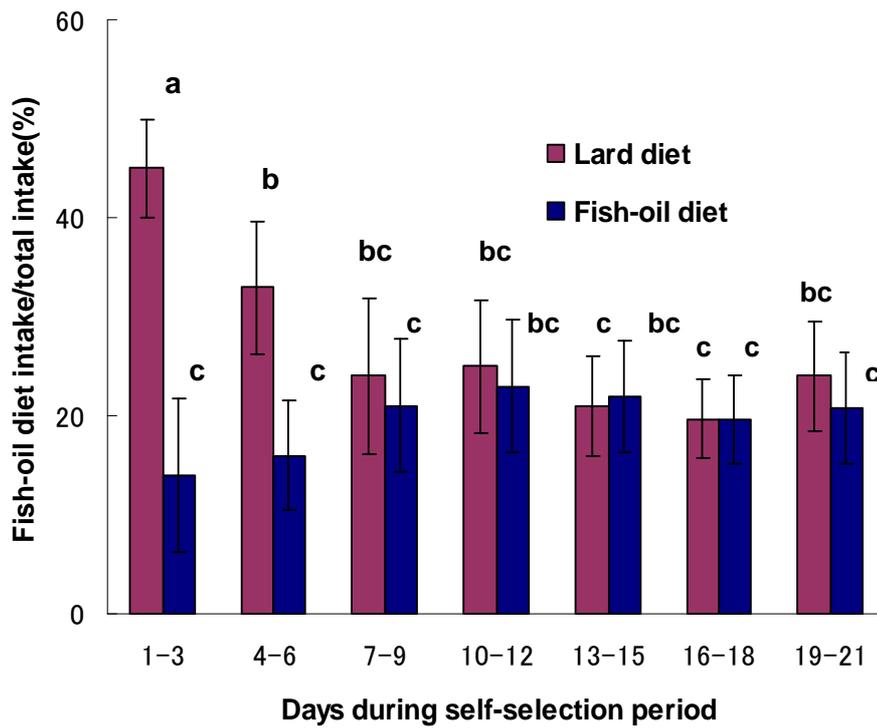


Figure 2. The ratio of the fish-oil diet intake to total diet intake during the self-selection period for 3weeks in rats fed the lard diet or the fish-oil diet during the dietary treatment period of 6 weeks. Values are expressed as mean± SD (n=10). Values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

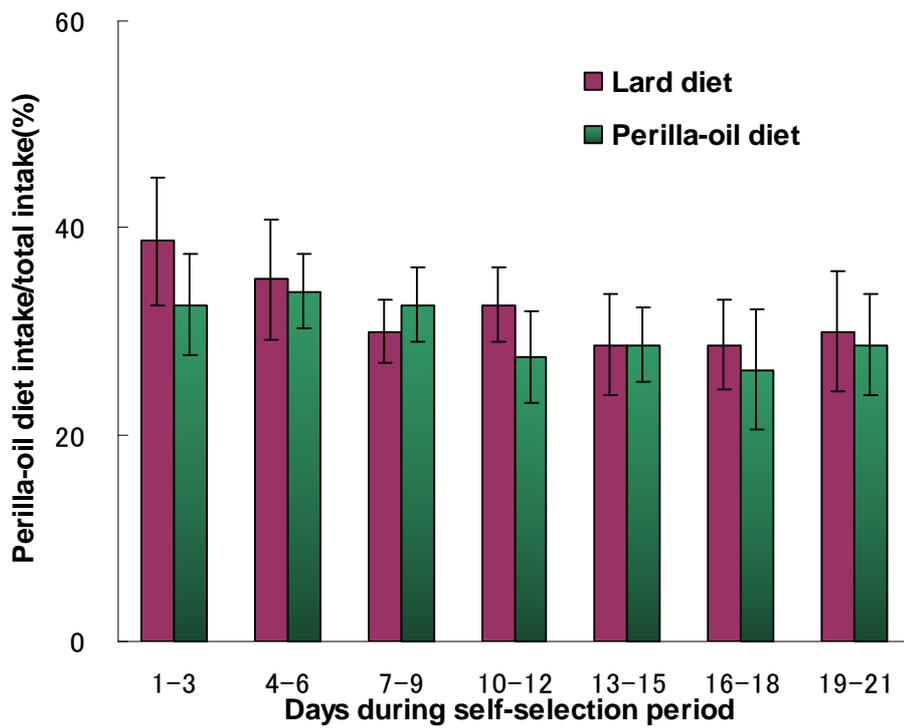


Figure 3. The ratio of the perilla-oil diet intake to total diet intake during the self-selection period for 3 weeks in rats fed the lard diet or the fish-oil diet during the dietary treatment period of 6 weeks. Values are expressed as mean \pm SD (n=10). Values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

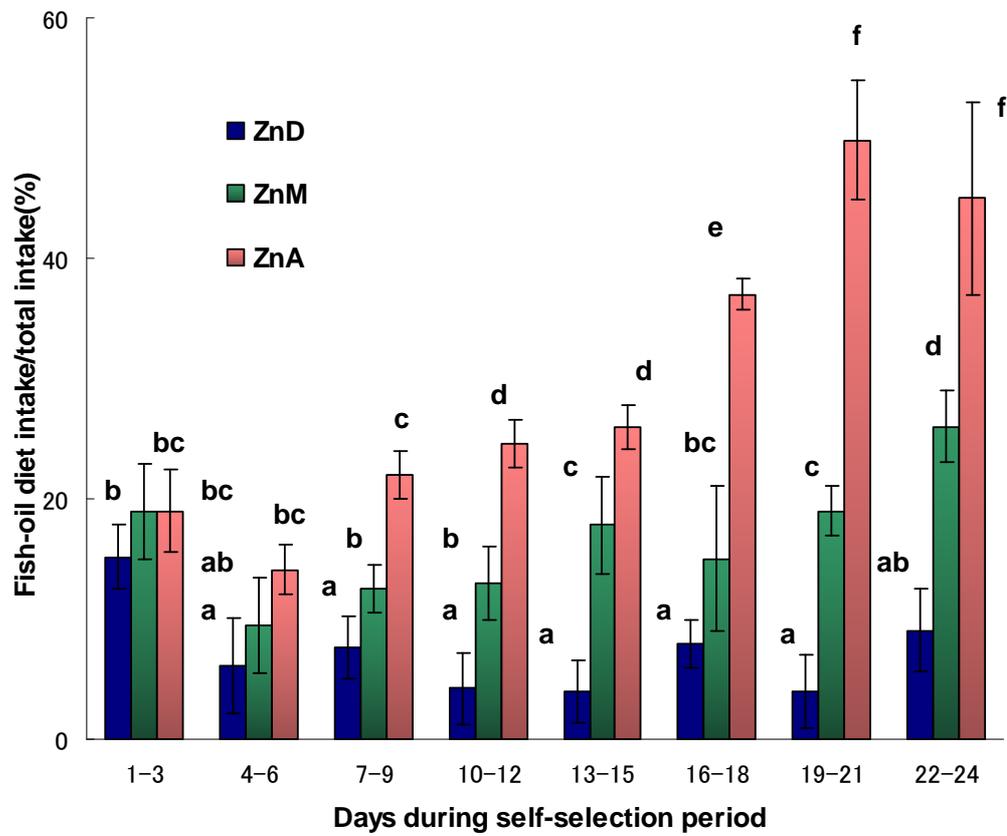


Figure 4. Effects of zinc deficiency on the ratio of the fish-oil diet intake to total diet intake. Values are expressed as mean \pm SD (n=6). Values not sharing a letter are significantly different at $p < 0.05$.

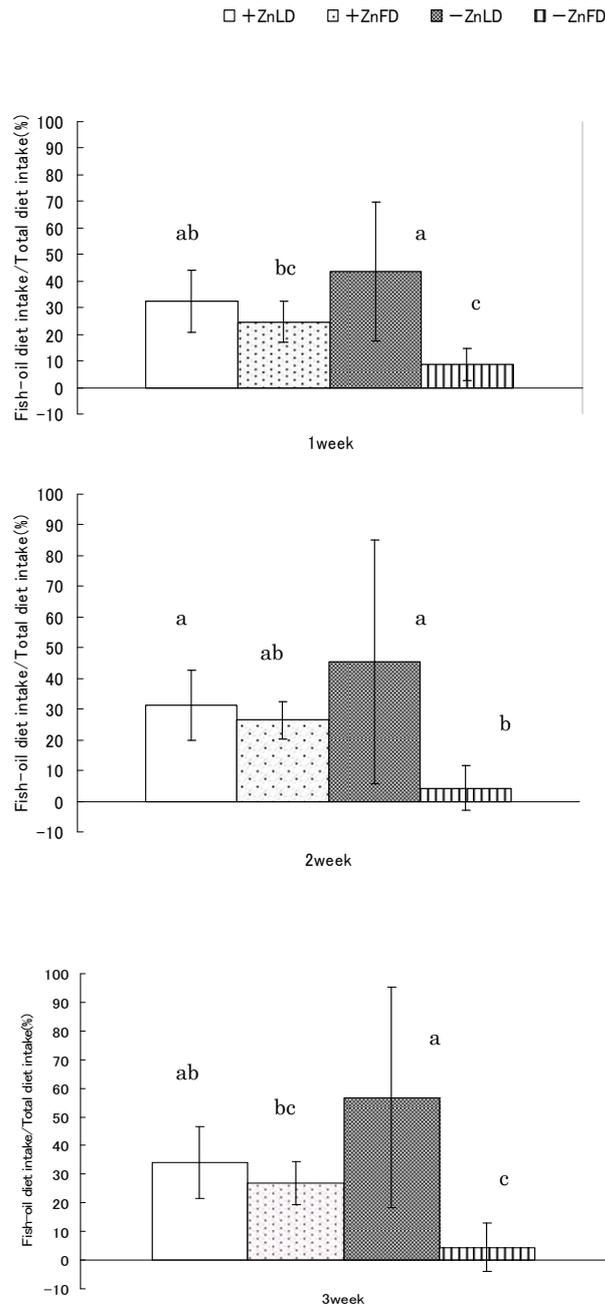


Figure 5. The ratio of the fish-oil diet intake to total diet intake during the self-selection period for 3wk in rats fed the lard diet or the fish-oil diet during the dietary treatment period of 3wk. Values are expressed as mean \pm SD (n=10), Values not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$

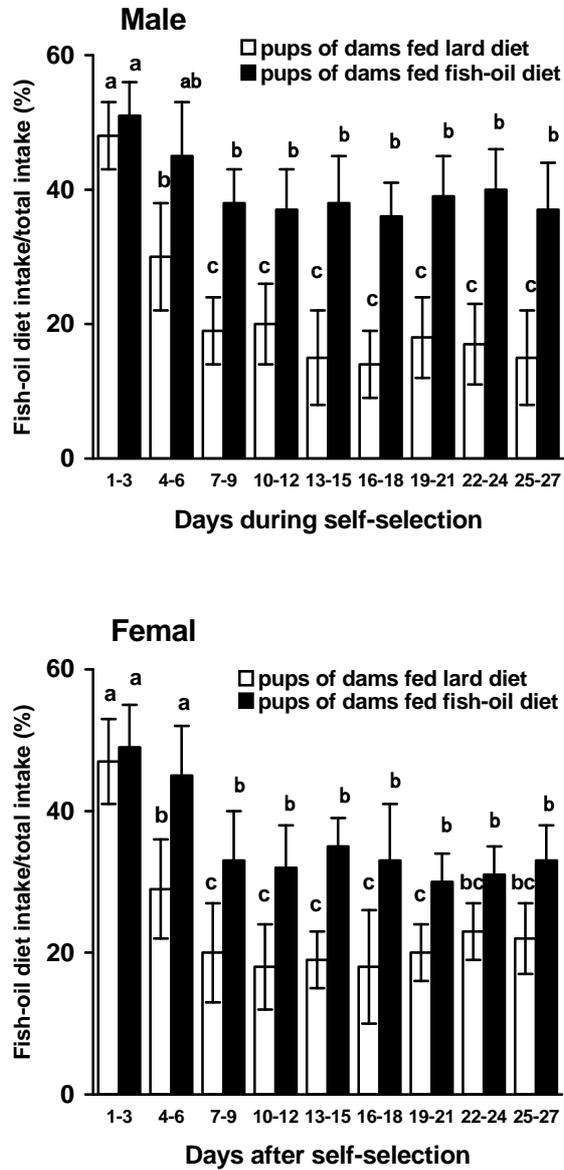


Figure 6. The ratio of the fish-oil diet intake to total intake during the self-selection period for 27 days in pups of dams fed the lard diet or the fish-oil diet during pregnancy and lactation. Values are expressed as mean±SD (n=12). Values not sharing a letter are significantly different ($p < 0.05$)