

## トピックス

# 母乳に含まれる脂肪酸アミドと認知機能 Fatty acid amides in breast milk and cognitive development

## はじめに

乳児期は、身体が発達するだけでなく、環境適応のために認知機能や運動機能も発達する時期であり、成人期と比較して心身の発育が著しい。特に脳の重量は、胎齢3ヶ月頃より急激に増加し続け1歳頃には約1,000gに達し、成人の脳重量(約1,300g)に近づく2歳頃から脳重量の増加速度は緩やかになる<sup>1)</sup>。このように2歳頃まではヒトの脳が最も発達する時期であり、乳児期の栄養には特段の配慮が必要となるため、母親から与えられる母乳が注目されている。母乳育児は、母親と子供の双方の健康において様々な利点がある。例えば、長期間の母乳育児は、母親に対しては乳がんや卵巣がんなどの女性特有のがん疾患リスクを低減させ<sup>2)</sup>、乳児に対しては感染症による死亡リスクを低減させる<sup>3)</sup>。しかし、育児用粉ミルクと比較して母乳の利点が認識されているにもかかわらず、女性の就業状況や早産児の生存率の高さが要因となり、低・中所得国と比較して高所得国においては、乳児期における母乳の摂取期間が短い<sup>4)</sup>。一方で、乳児期の栄養状態は、初期段階の発達だけでなく、思春期や成人期の健康や疾病リスクにも関係する<sup>5)</sup>。したがって、乳児期の主な栄養摂取手段である母乳に含まれる生理活性物質を同定し、その機能を理解することは重要な意味を持つ。

## 母乳中の成分と生理機能

母乳は、脂質、タンパク質、炭水化物をはじめとして、乳児にとって必要な栄養素を含んでいる。脂質は、母乳の総エネルギー量の40～55%を占めており、乳児の主なエネルギー源となる。母乳より分泌される脂質の大部分は、トリアシルグリセロールであり、約200種類の脂肪酸で構成されている。母乳中の脂肪酸は、飽和脂肪酸が約40～45%、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸(18:1n-9)が約30～40%、必須脂肪酸であるリノール酸(18:2n-6)が約10%、 $\alpha$ -リノレン酸が約1%(18:3n-3)、リノール酸や $\alpha$ -リノレン酸を前駆体と

して生体内で合成される長鎖多価不飽和脂肪酸が約2%の割合で含まれる<sup>6)</sup>。母乳脂質の大部分は、母親が摂取した食事からの脂質や母体の貯蔵物から循環系に移行した脂質に由来し、主に長鎖脂肪酸より構成される。一方で、母乳脂質の一部は、乳腺上皮細胞においてグルコースから新たに合成され、それらの脂肪酸の組成は中鎖飽和脂肪酸(10:0, 12:0, 14:0, 16:0)の割合が多い<sup>7)</sup>。長鎖多価不飽和脂肪酸は、乳児の中樞神経系の発達において重要である。特にドコサヘキサエン酸(22:6n-3)やアラキドン酸(20:4n-6)は脳や網膜細胞の基本成分であるため、乳児の認知機能や視力の発達に影響を及ぼす<sup>8)</sup>。食餌性n-3系脂肪酸は学習能力や認知行動に関与し、食餌性n-3系脂肪酸を欠乏させると脳内のドコサヘキサエン酸濃度が減少する。例えば、3世代にわたってn-3系脂肪酸を欠乏させた食餌を与えたラットでは、第2世代と第3世代のラットの脳内のドコサヘキサエン酸濃度が20%低下し、モリス水迷路試験より認知機能や記憶力が低下することが示されている<sup>9)</sup>。また、乳児の発育において、アラキドン酸が身体成長に、ドコサヘキサエン酸が脳機能の発達・維持に重要な役割を果たすことが明らかとなっている<sup>10)</sup>。興味深いことに妊娠前の母親の健康状態は母乳に影響を及ぼす。正常体重の母親と比較して、妊娠前に肥満状態にある母親の総乳中の $\alpha$ -リノレン酸、ドコサヘキサエン酸、および総n-3系脂肪酸は低い<sup>11)</sup>。母親の健康状態は、母乳成分を変化させ、乳児に多くの影響を及ぼす可能性があることから、妊娠中の母親の食事成分を含めた生活環境は十分注意が払われる必要がある。

## 脂肪酸アミドについて

長鎖脂肪酸アミドは、炭素数が16以上の脂肪酸とアミド基で構成される。長鎖脂肪酸アミドは、オレアミドを代表とする一級脂肪酸アミドとアナンダミドを代表とするN-アシルエタノールアミドに分類される。これらの長鎖脂肪酸アミドは、神経系や末梢組織の受

容体に作用し、様々な生理作用を制御するシグナル伝達物質として機能するため、脂質メディエーターとして注目される。

オレアミドは、1989年にArafatら<sup>12)</sup>により、黄体期の女性の血漿から初めて単離された。その後、Cravattら<sup>13)</sup>により、睡眠不足のネコの脳脊髄液中でオレアミドの存在が同定された。彼らはラットの脳室内または腹腔内にオレアミドを投与することによってオレアミドが睡眠を誘発することを見いだした。オレアミドは、ヒトの尿、唾液、汗といった生体液からも検出されている<sup>14)</sup>。オレアミドは、睡眠誘導作用だけでなく、神経系にも作用する。最近の研究において、オレアミドはミクログリア貪食作用を介してアルツハイマー病の発症原因であるアミロイドβの蓄積を減少する<sup>15)</sup>。オレアミドは、カンナビノイド受容体であるCB2受容体を介した抗炎症作用を有するが、オレアミドによるミクログリアの腫瘍壊死因子αの産生にはCB2受容体は関与せず、オレアミドはプリン作動性(P2)受容体ファミリーのP2Y1受容体を介してアミロイドβ沈着後のミクログリアの炎症反応を抑制する<sup>16)</sup>。また、オレアミドはPPAR-αを介して海馬前駆細胞における神経新生の発現を増加させる<sup>17)</sup>。これらの結果より、オレアミドが神経系に作用して、認知機能を改善する可能性がある。

最近、オレアミドが食品に含まれることが見つっている<sup>15)</sup>。このことはオレアミドが経口から摂取されることを示している。Kobayashiら<sup>18)</sup>は、7週齢のマウスにおいて、通常状態で血漿中オレアミド濃度は約30 nMであり、オレアミド(50 mg/kg body weight)を単回で経口投与すると血漿中オレアミド濃度が約200 nMまで達することを報告している。一方で、小腸におけるオレアミドの消化・吸収を検討するために小腸上皮様モデルCaco-2細胞をトランスウェル上で培養したところ、細胞内と基底膜側のオレアミドの総量が頂端側で減少したオレアミドの約7%であった<sup>19)</sup>。しかし、脂肪酸アミド加水分解酵素(FAAH)の阻害剤存在下では細胞内と基底膜側のオレアミドの総量が45%にまで増加した。さらにマウスにFAAH阻害剤を投与した後、オレアミドを投与すると、血漿中オレアミド濃度が900 nM以上に達した。また門脈またはリンパ管にカテーテルを挿入したラットにオレアミドを投与することによって、オレアミドの主要な吸収経路がリンパ管経路ではなく、門脈経路であることが判明した。つまり、経口投与したオレアミドの大半は小腸上皮細胞においてFAAHによって代謝され、分解を逃れたオレアミドが門脈経路で体内循環系に入り、標的組織で作用

すると推測される。

### 母乳中のオレアミドが乳児に与える影響

母乳には、乳児期に必要な様々な栄養素が含まれており、長鎖脂肪酸アミドも含まれる。授乳16週目から24週目のヒトの母乳には、パルミトイルエタノールアミドやオレオイルエタノールアミドといったN-アシルエタノールアミドが含まれる<sup>20)</sup>。長鎖脂肪酸アミドは細胞膜のスフィンゴ脂質として機能する。スフィンゴミエリンは神経軸索を取り囲むミエリンの構成成分であり、神経軸索の正常な髄鞘形成に不可欠である<sup>21)</sup>。ヒトの母乳にはスフィンゴ脂質が含まれているが、スフィンゴミエリンおよびセラミドの総含有量は、母親の妊娠中の食事内容に関係しない。また、ヒトの母乳と育児用粉ミルクを比較すると、スフィンゴ脂質の組成が異なる。母乳は育児用粉ミルクよりもセラミドの総含有量が高く、鎖長においては、母乳では中鎖・長鎖脂肪酸のセラミド(Cer18:1, Cer18:0, Cer20:0, Cer24:1, Cer24:0)が多く、短鎖脂肪酸のセラミド(Cer14:0, Cer16:0)が少ない<sup>22)</sup>。

ヒトの母乳中には一級脂肪酸アミドも存在する。最近、Taoら<sup>23)</sup>は、ヒトの母乳中の長鎖脂肪酸アミドの濃度を産後より経時的に測定した。産後1週から24週の母乳中の長鎖脂肪酸アミド濃度は、オレアミドが最も高く0.566–1.31 mg/L (2–4.7 μM)、次にパルミトアミドが0.135–0.269 mg/L、リノールアミドが0.046–0.242 mg/Lであった。母乳中のオレアミド濃度は、産後3週目において最も高く、産後16週目から24週目にかけて急激に減少した。その他の脂肪酸アミド濃度も産後16週目から24週目にかけて減少した。母乳中のオレアミドの機能は不明であったが、前述したようにオレアミドが神経系に作用して認知機能を高める可能性があったため、乳児期(生後3日目から21日目まで)に、低用量(L-ODA; 5 mg/kg body weight /day)または高用量(H-ODA; 25 mg/kg body weight /day)のオレアミドをマウスに経口投与し、モリス水迷路試験によって思春期(生後24日目から34日目まで)における空間学習力と記憶力が評価された。H-ODA群は、コントロール群と比較して、水面下に隠された避難用のプラットフォームをみつけるまでの時間(逃避潜時)と移動距離が有意に減少した。L-ODA群は、コントロール群と比較して、逃避潜時は有意に減少したが、移動距離に変化はなかった。また、学習後にプラットフォームを除きプローブテストを行ったところ、H-ODA群は、コントロール群と比較して、プラットフォームが置かれていた場所に入る回数が有意に増加し、正確な

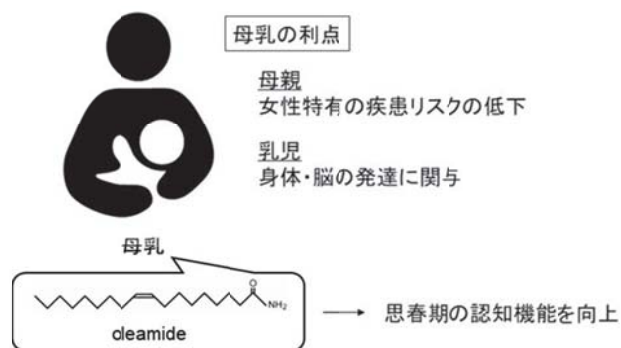


図1 母乳に含まれるオレアミドの機能

記憶力を有していた。オレアミドの経口投与による空間認識力や記憶力の向上は、海馬の機能やニューロンの分岐の増加が起因していると示唆された。オレアミドは、母乳中に含まれており、乳児期の脳の機能への作用だけでなく、思春期の認知機能にも影響する可能性が示された(図1)。

#### おわりに

母乳は、乳児の栄養状態を支える大変重要な役割をもつため、母乳に含まれる成分を同定し、その機能を解明することは、乳児の発達促進に寄与すると考えられる。母乳に含まれるオレアミドは、乳児期の摂取により、思春期の認知機能を向上させる可能性がある。オレアミドが有する神経発達などの様々な生理活性機能を発揮するためには、オレアミドが機能を発揮できる血中濃度を理解する必要がある。残念ながら Tao らの研究では、乳児期でのマウスの血中オレアミド濃度が測定されていないため、今後、*in vitro* 実験においてオレアミドの神経系における機能が評価される際は、オレアミドの血中濃度を考慮して研究される必要があるだろう。

**Key words** :oleamide, breast milk, cognitive development, fatty acid amides

<sup>1</sup>Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University

<sup>2</sup>Center for Research and Development of Bioresources, Osaka Metropolitan University

Mai Kubota<sup>1</sup>, Tomoya Kitakaze<sup>1</sup>, Naoki Harada<sup>1</sup>, Ryoichi Yamaji<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪公立大学大学院農学研究科生命機能化学専攻

<sup>2</sup>大阪公立大学生物資源開発センター

窪田 舞<sup>1</sup>, 北風 智也<sup>1</sup>, 原田 直樹<sup>1</sup>, 山地 亮一<sup>1,2</sup>

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2024.1.5 受付)

## 文 献

- 1) Dobbing J, Sands J. (1973) Quantitative growth and development of human brain. *Arch Dis Child* **48**, 757–767
- 2) Chowdhury R, Sinha B, Sankar MJ, Taneja S, Bhandari N, Rollins N, Bahl R, Martines J. (2015) Breastfeeding and maternal health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 96–113
- 3) Sankar MJ, Sinha B, Chowdhury R, Bhandari N, Taneja S, Martines J, Bahl R. (2015) Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 3–13
- 4) Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, Murch S, Sankar MJ, Walker N, Rollins NC. (2016) Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* **387**, 475–490
- 5) Barker DJ, Osmond C. (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* **1**, 1077–1081
- 6) Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T. (2001) Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev* **65**, Suppl:S3–s18
- 7) Thompson BJ, Smith S. (1985) Biosynthesis of fatty acids by lactating human breast epithelial cells: an evaluation of the contribution to the overall composition of human milk fat. *Pediatr Res* **19**, 139–143
- 8) Crawford MA, Hassam AG, Williams G. (1976) Essential fatty acids and fetal brain growth. *Lancet* **1**, 452–453
- 9) Moriguchi T, Greiner RS, Salem N, Jr. (2000) Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem* **75**, 2563–2573
- 10) Harauma, A., Yasuda, H., Hatanaka, E., Nakamura, M. T., Salem, N., Jr. & Moriguchi, T. (2017) The essentiality of arachidonic acid in addition to docosahexaenoic acid for brain growth and function. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* **116**, 9–18
- 11) Tekin-Guler T, Koc N, Kara-Uzun A, Fisunoglu M. (2023) The Association of Pre-Pregnancy Obesity and Breast Milk Fatty Acids Composition and the Relationship of Postpartum Maternal Diet, Breast Milk Fatty Acids and Infant Growth. *Breastfeed Med* **18**, 475–482
- 12) Arafat ES, Trimble JW, Andersen RN, Dass C, Desiderio DM. (1989) Identification of fatty acid amides in human plasma. *Life Sci* **45**, 1679–1687
- 13) Cravatt BF, Prospero-Garcia O, Siuzdak G, Gilula NB, Henriksen SJ, Boger DL, Lerner RA. (1995) Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. *Science* **268**, 1506–1509

- 14) Castillo-Peinado LS, López-Bascón MA, Mena-Bravo A, Luque de Castro MD, Priego-Capote F. Determination of primary fatty acid amides in different biological fluids by LC-MS/MS in MRM mode with synthetic deuterated standards: Influence of biofluid matrix on sample preparation. (2019) *Talanta* **193**, 29–36
- 15) Ano Y, Ozawa M, Kutsukake T, Sugiyama S, Uchida K, Yoshida A, Nakayama H. (2015) Preventive effects of a fermented dairy product against Alzheimer's disease and identification of a novel oleamide with enhanced microglial phagocytosis and anti-inflammatory activity. *PLoS One* **10**, e0118512
- 16) Kita M, Ano Y, Inoue A, Aoki J. (2019) Identification of P2Y receptors involved in oleamide-suppressing inflammatory responses in murine microglia and human dendritic cells. *Sci Rep* **9**, 3135
- 17) Roy A, Kundu M, Chakrabarti S, Patel DR, Pahan K. (2021) Oleamide, a Sleep-Inducing Supplement, Upregulates Doublecortin in Hippocampal Progenitor Cells via PPAR $\alpha$ . *J Alzheimers Dis* **84**, 1747–1762
- 18) Kobayashi Y, Watanabe N, Kitakaze T, Sugimoto K, Izawa T, Kai K, Harada N, Yamaji R. (2021) Oleamide rescues tibialis anterior muscle atrophy of mice housed in small cages. *Br J Nutr* **126**, 481–491
- 19) Kobayashi Y, Watanabe N, Hiura R, Kubota M, Furuta K, Sugimoto K, Murota K, Nakamura E, Matsuura T, Kai K, Inui T, Kitakaze T, Harada N, Yamaji R. (2022) Transport Form and Pathway from the Intestine to the Peripheral Tissues and the Intestinal Absorption and Metabolism Properties of Oleamide. *J Agric Food Chem* **70**, 15499–15508
- 20) Gaitán AV, Wood JT, Solomons NW, Donohue JA, Ji L, Liu Y, Nikas SP, Zhang F, Allen LH, Makriyannis A, Lammi-Keefe CJ. (2019) Endocannabinoid Metabolome Characterization of Milk from Guatemalan Women Living in the Western Highlands. *Curr Dev Nutr* **3**, nzz018
- 21) Widder K, Harauz G, Hinderberger D. (2020) Myelin basic protein (MBP) charge variants show different sphingomyelin-mediated interactions with myelin-like lipid monolayers. *Biochim Biophys Acta Biomembr* **1862**, 183077.
- 22) Dei Cas M, Paroni R, Signorelli P, Mirarchi A, Cerquiglioni L, Troiani S, Cataldi S Codini M, Beccari T, Ghidoni R, Albi E. (2020) Human breast milk as source of sphingolipids for newborns: comparison with infant formulas and commercial cow's milk. *J Transl Med* **18**, 481
- 23) Tao R, Huang S, Zhou J, Ye L, Shen X, Wu J, Qian L. (2022) Neonatal Supplementation of Oleamide During Suckling Promotes Learning Ability and Memory in Adolescent Mice. *J Nutr* **152**, 889–898