

Overseas Agricultural Technique Seminar

海外農業技術セミナー

Designer Milk

-The Potential to Alter the Nutritional Quality of Milk-

デザイナーズ・ミルク

～次世代高機能ミルクへの可能性～

ジョン・ケネリー教授

DR. JOHN J. KENNELLY

Dean, Faculty of Agriculture, Forestry & Home Economics

University of Alberta

Hokkaido-Alberta Dairy Science and Technique Exchange Association



ジョン・ケネリー 教授 Dr. John J. Kennelly

カナダ・アルバータ大学 農林・家政学部長

Dean, Faculty of Agriculture, Forestry & Home Economics, University of Alberta

1976 年にダブリン大学を首席で卒業、1980 年にアルバータ大学で博士号を取得。

1997 年からアルバータ大学農林・家政学部 農業・食品・栄養科学科の教授として勤務し、2004 年、同学部長に就任した。

ケネリー氏は、アメリカをはじめペルー、メキシコ、アイルランド、日本、韓国、中国、台湾、パキスタンなど多くの国々に講演者や相談役として招かれている。また、20 年に渡り、プログラム責任者として西カナダ酪農セミナーを大成功に収めた。

主な研究分野は、栄養学・泌乳生理学であり、乳合成の生物学的効率と食物として、品質に作用する栄養学的・遺伝学的因子が中心である。彼の研究グループは、牛乳の脂肪酸組成の変化における栄養素の役割を重点に、乳組成における栄養素と遺伝子の作用解明に貢献している。

司会進行：北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 理事 安宅 一 夫

13:00 開 会

開会あいさつ：北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 会 長 平 尾 和 義

13:05 セミナー デザイナーズ・ミルク

～次世代高機能ミルクへの可能性～

ジョン・ケネリー 教授

通訳：加 藤 和 代 氏

途中休憩有

16:30 質疑応答

17:00 閉 会

閉会あいさつ：北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 常任理事 松 中 照 夫

デザイナーズ・ミルク

次世代高機能ミルクへの可能性

John J. Kennelly, John A. Bell, Aileen F. Keating, Lorraine Doepel

アルバータ大学 農業・食品・栄養科学科

Designer Milk はじめに

反芻動物のミルクは優れた栄養源であり、数千年も前から人類の重要な食品の一つである。今ではミルクの組成を変えることが有利と思われる場面が数多く存在する。たとえば、酪農家は経営的理由から牛乳の特定成分の濃度を変えることに関心を持つと思われる。乳脂肪と乳蛋白質に対する消費者の要望は時代とともに変化するため、牛乳の生産者は栄養学的に乳脂肪率と乳蛋白質率を変えて、収入を最大限に高めたいと考えるだろう。乳製品製造加工業者は、チーズの収量を高めるためにカゼインを増やす戦略に興味を持ったり、バターを軟らかくする不飽和脂肪酸を増やす方法に関心を持ったりするだろう。また、栄養学者なら健康増進のためにミルクの組成を変えたいと思うかもしれない。その方法としては、飽和脂肪酸の濃度を減らしたり、オメガ-3 脂肪酸、共役リノール酸 (CLA)、生物活性ペプチドといった特定機能を持つ成分を強化したりすることが考えられる。さらに、最も期待される実現可能な方法として、遺伝子工学による乳成分の改変が挙げられ、これには、医学的に価値の高い医薬品を含む牛乳を生産するようデザインされたトランスジェニック（遺伝子改変）乳牛の利用が含まれる。

乳成分を改変するアプローチとして挙げられるものがこれほど多岐にわたるのは、泌乳の生理学的な過程が複雑なためである。理論上、乳成分改変の可能性には限りがないように見える。乳汁分泌細胞（すなわち乳腺上皮細胞）の潜在能力は偉大である。しかし実際は、乳腺上皮の機能的および生物学的制約により、その分泌物の成分を変える機会には限りがある。たとえば、乳腺細胞の機能的特徴、乳腺細胞の限りある寿命、乳成分同士の機能的得失、浸透活性分泌物の必要性、貯蔵に適した形での炭水化物生産の必要性、母性栄養の必要性、および乳腺を保護する抗菌性維持の必要性などにより、乳成分の操作には限界がある。ただ、これらの制限を考え合わせても、乳成分の改変にはまだ大きな可能性が残されている。

牛乳の脂肪分は特に飼料の給与法によって変わりやすいため、乳脂肪の割合と組成に対する栄養の影響に注目した研究が多く行われてきている。中でも特定の脂肪酸、特に n-3 および

n-6 多価不飽和脂肪酸の濃度を高めるための多様な脂質供給源の給与に焦点を絞った研究が多い。最近研究者は、特に反芻動物の乳脂肪に自然に存在する強力な抗発癌物質である CLA の濃度を高めるための飼料給与法の発見に躍起になっている。牛乳の組成を変える方法に関する知識は増えてきているものの、実際に応用されている情報はまだ非常に少ない。しかし、乳脂肪の組成を変更できれば、CLA 強化ミルクなど画期的な乳製品の開発につながる可能性がある。

Designer Milk 乳成分変更への飼料からのアプローチ

栄養は、乳成分を急速に改変するための最も有効な手段となる。ほとんどすべての乳成分が操作可能であるが、それぞれの変更の可能性は異なる。一般に最も変わりやすいのは乳脂率と脂肪酸組成であり、乳糖は最も変わりにくく、蛋白質はその中間である。乳成分の変化は常に明白とは限らない。たとえば、総蛋白質濃度は変わっていなくても、カゼインと非蛋白窒素の比率が大きく変化していることがある。同様に、乳脂率に変化がなくても、脂肪酸組成がかなり変化していることがある。

乳蛋白質に対する飼料の影響

乳蛋白質の濃度と組成は多くの要因に影響されるが、その変化は乳脂肪の含量と組成の場合ほど大きくない。乳牛では飼料中窒素から乳蛋白質への変換はあまり効率的ではない（25～30%）。蛋白質やアミノ酸を補給して乳蛋白質含量を増やそうとしても、その反応は予想よりも小さいことが多く、これはおそらく乳牛におけるアミノ酸代謝がよく理解されていないことによるものと思われる（Bequette ら, 1998）。このような、飼料中の蛋白質とアミノ酸が乳蛋白質の合成量と組成に影響する機序が十分に解明されていないために、生物学的に効率的で経済的な飼料の配合が難しい。泌乳期のアミノ酸および蛋白質代謝の基礎となる調節過程を明らかにし、その特徴を知ることができれば、乳牛のアミノ酸から乳蛋白質への変換能を高めることも可能になるはずである。

Hristov ら（2004）は、乳蛋白質生産量に対する飼料成分の影響を調べるために 256 の給与試験を分析した。その結果、乳蛋白質生産量は乾物摂取量、飼料中の粗蛋白質、代謝蛋白質、中性デタージェント繊維の濃度、および乳牛の体重によって決まることが明らかになった。また、蛋白質生産量に対する泌乳日数の影響はあまり大きくないことも明らかになった。乳蛋白質生産量は粗蛋白質と負の相関を示したが、これは蛋白質生産量が飼料中の粗蛋白質の増加によって実際に減少することを示唆している。飼料中の粗蛋白質に非蛋白窒素が多く含まれているとすると、実際の代謝蛋白質量は低粗蛋白質で、おそらく低非蛋白窒素の飼料よりも少ない。乳蛋白質生産量は代謝蛋白質と正の相関を示している。代謝蛋白質が増えれば

アミノ酸の吸収が増加し、それに伴って乳腺における利用も増大する。この分析の問題点は、分析モデルにアミノ酸を含めなかったことである。なぜなら、アミノ酸は乳蛋白質の構成要素であるため、乳蛋白質合成量を予測する場合には必ずこれを考慮しなければならためである。

Doepel ら (2004) も Hristov と同様の研究を実施したが、彼らは第一胃をバイパスしてアミノ酸またはカゼインを腸に注入し、乳蛋白質の反応に対する個別のアミノ酸の影響を調べる試験を行った。そして、乳蛋白質生産量は主として吸収性ヒスチジン、リジン、およびメチオニンの供給量、正味エネルギーの供給量および泌乳日数に左右されることを明らかにした。このようなモデルは蛋白質生産量に影響する因子について示唆を与えてくれるが、このモデルによる予測が 100% 正確というわけではないことは明白である。このことは、乳牛への蛋白質またはアミノ酸補給に関する試験を調べてみるとはっきりする (総説については Bequette ら, 1998 を参照)。乳蛋白質生産量の増加が観察された試験では、一般にその増加は予測よりも小さいものとなっている。たとえば、カゼインを注入した一連の実験における乳蛋白質のカゼイン回収率はわずか 21% であった (Hanigan ら, 1998)。まず、なぜ反応がこれほど小さいのか、また乳蛋白質合成量を制限するのは組織への分配 (利用可能なアミノ酸をめぐる組織同士の競合) なのかそれともアミノ酸のパターン、量、もしくは乳腺の取り込みなのか、という疑問を明らかにする必要がある。乳蛋白質含量を安定して変更できるようにするためには、その合成の背後にある調節機構を理解しなければならない。

アミノ酸の供給に対する反応は泌乳の進行に伴って変化するが (負の関係)、これはおそらくホルモンその他の代謝調節因子に対する組織感受性の変化を反映したものと思われる。成牛は、未経産牛に比べて乳蛋白質率は低いが蛋白質生産量は高いことが示されている。第一胃内の飼料蛋白質消化の速度と程度が低下すると乳蛋白質のパーセントは上昇するが、乳量と乳蛋白質生産量に対する正の影響も大きくなることが明らかにされている (Robinson ら, 1992)。飼料蛋白質の分解速度の変化が必ず乳蛋白質率の上昇につながるとは限らないが、時としてカゼインおよび (または) ホエイを代償として非蛋白窒素含量が増加することがある (Khorasani ら, 1994; Robinson ら, 1991)。

エネルギー産生化合物の供給量の増加も乳蛋白質生産量に影響する。酪酸塩を第一胃に注入すると乳蛋白質率が上昇する一方 (Huhtanen ら, 1993)、プロピオン酸塩の注入では影響は現れない (Hurtaud ら, 1993)。濃厚飼料給与率を上げると (飼料乾物の 50% 超)、一般に乳蛋白質合成量が高くなる。同様にデンプン供給源 (大麦かトウモロコシか) もミルクの蛋白質分画の特徴に影響する可能性が高い (Khorasani ら, 1994)。

飼料への脂質の補給は通常、乳蛋白質率に負の影響を与えるが、添加によって必ず乳蛋白質生産量が増加するとは限らない (Robinson および Burgess 1990; Khorasani ら, 1991)。脂肪の補給によって乳量が増加した場合、乳蛋白質の 1 日総生産量は変わらないか増加する。粗飼料または穀類の種類の違いの影響は小さいが、時には粗飼料の種類 (Khorasani ら,

1993) や穀類の種類 (Khorasani ら, 1994) によって差異が生じることもある。飼料による乳脂肪分の変化の影響は、おそらく乳蛋白質濃度に対しては比較的小さいが、蛋白質と脂肪の比率すなわち蛋白質と脂肪の相対的合成量に対してはかなり大きいと考えられる。

乳脂肪に対する飼料の影響

乳脂肪は 400 種類以上の脂肪酸を含有する複合脂質である。牛乳の脂肪の顕著な特徴としては、短鎖脂肪酸が存在すること、奇数鎖および側鎖脂肪酸が存在すること、飽和脂肪酸の比率が比較的高いこと、多価不飽和脂肪酸の比率が低いこと、および共役リノール酸 (CLA) などのトランス脂肪酸の比率が比較的高いことが挙げられる。乳脂肪は乳腺における遊離脂肪酸からグリセロールへのエステル化によって合成され、これにより乳脂肪の 97~98% を占めるトリグリセリドが生じる。脂肪酸は乳腺内で前駆物質から合成されるか、飼料または体内の貯蔵脂肪からの動員に由来する合成済みの脂肪酸として乳腺に入ってくる。牛乳の成分のうち、脂肪は量と組成が最も多様である。この多様性には、遺伝子、泌乳期の段階、栄養および第一胃発酵の特徴に影響するその他の因子が関連している。

乳脂肪の組成に影響する主要な栄養因子は、粗飼料、第一胃調節剤、および添加油脂類の影響である。これらの因子は、飼料由来の脂肪酸の供給、新規合成のための第一胃内での前駆物質の産生、第一胃微生物の脂肪酸合成、および新規合成を阻害または刺激する特異的脂肪酸の第一胃での産生により、ミルクの脂肪酸組成に影響する。

粗飼料は次の 2 つの点でミルクの脂肪酸組成に影響する。第一に、粗飼料は第一胃内の酢酸と酪酸を主に生産するセルロース分解細菌のための基質の多くを供給する。第二に、粗飼料は主として多価不飽和脂肪酸の形で、総脂肪酸摂取量のかなりの割合を占める。

第一胃の状態を調節する飼料添加物もミルクの脂肪酸プロファイルに影響し得る。Kennelly ら (1999) は、粗飼料 : 濃厚飼料が 50 : 50 または 25 : 75 の飼料への緩衝剤添加の影響を調べた。緩衝剤の添加は、高濃厚飼料によるミルクのトランス脂肪酸の上昇と、それに付随する乳脂率の低下を防いだ。イオノフォア抗生物質であるモネンシンも、乳脂肪分を低下させ、乳脂肪の組成を変化させることが示されている。

飼料への油脂類の添加は、乳脂肪の量と組成に最も大きく影響する。これまでに試験されたことのある一般的な添加油脂類には、全粒および加工脂肪種子または抽出油、動物性脂肪、魚油、および第一胃保護脂肪がある。研究の多くは、乳牛に対する油実類またはその油の影響に関するものである。一般に、キャノーラ (ナタネ)、大豆、ヒマワリ、紅花、亜麻仁などの油実類またはその油を給与すると、ミルクの 4 : 0 - 16 : 0 が減少し、18 : 1、18 : 2 または 18 : 3 が増加する。この脂肪組成の変化の程度は、補給した油実類の量および種類によって異なる。ただし、これらの一価および多価不飽和脂肪酸の強化の程度は、油実類の脂

脂肪酸組成から予想されるものよりもはるかに小さい。その理由は、第一胃微生物が不飽和脂肪酸を水素化できることにある。研究者は、多くの場合、ホルムアルデヒド処理したカゼインのカプセルに脂質を封入したりカルシウム塩として脂肪酸を給与することによって微生物による生物学的水素添加から油を保護し、この問題を克服しようと試みている。牛脂などの動物性脂肪は、飼料のエネルギー密度を高めるための効果的な手段として用いられている。牛脂の主要な脂肪酸は 16 : 0 (23~27%)、18 : 0 (14~29%)、および 18 : 1 (36~50%) である。牛脂の補給は、乳脂肪の 6 : 0-14 : 0 を減少させ、18 : 1 を増加させる傾向がある (Chilliard ら, 2001)。牛脂は多価不飽和脂肪酸の含量が低いため、特にミルクの不飽和脂肪酸濃度を高める目的にはあまり役立たないと思われる。さらに、動物への動物製品の給与にはマイナスイメージも付きまとう。それに対して多大な関心を集めているのは、魚油の補給によって乳脂肪組成を調節する可能性である。魚油は、超長鎖多価不飽和脂肪酸の 20 : 5 および 22 : 6 を豊富に含む傾向がある。魚油を給与すると、一般にミルクの 4 : 0-14 : 0、16 : 0、18 : 0 および 18 : 1 の比率が低下し、トランス 18 : 1、20 : 5 および 22 : 6 が増加する傾向がある (Chilliard ら, 2001)。

Designer Milk 共役リノール酸 (CLA)

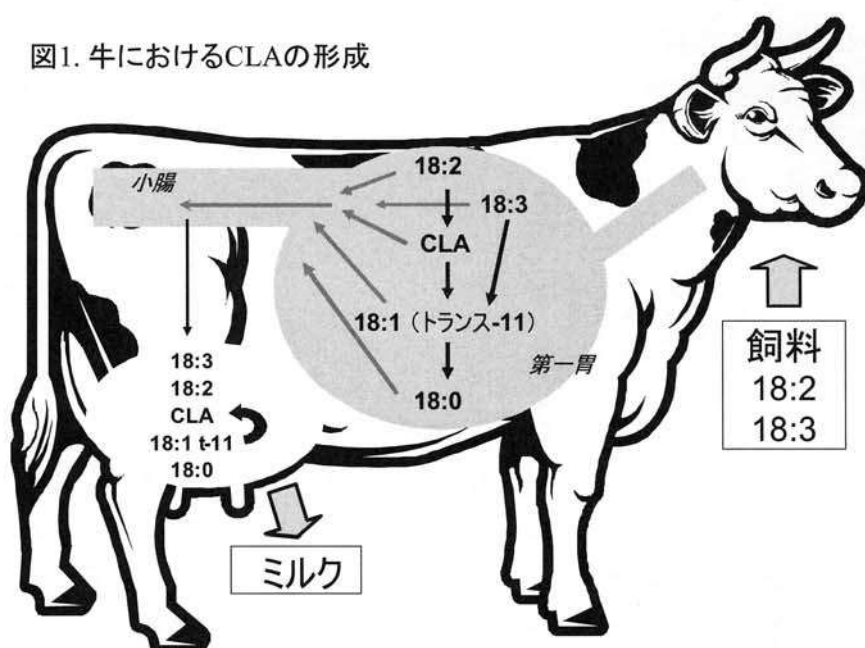
反芻動物の生産に関連した CLA の話題については、すでに総説が発表されている (Grinari および Bauman, 1999; Dhiman, 2000; Chilliard ら, 2001)。共役リノール酸は、強力な抗癌作用を一例として、人体の健康に多くの有効作用を示すことが近年明らかにされた乳脂肪の一成分である。天然の抗癌物質はほとんどが植物由来であることを考えると、これは特に興味深い。CLA は反芻動物の産物であるため、牛乳と乳製品は最も豊富に含む食品の 1 つということになる。

乳牛における CLA の生合成

共役リノール酸という用語は、18 個の炭素が結合した脂肪酸の一群を指す。牛乳ではシス-9、トランス-11 が主要な CLA 異性体であり、CLA の約 80% を占めるが、8/10、9/11、10/12 または 11/13 の位置に二重結合を持つものなど、他の異性体も形成され、これらの二重結合はそれぞれがシスまたはトランス配置となり得るため、CLA 異性体が複数存在することになる。共役リノール酸は、飼料中の脂肪の消化における中間産物として第一胃内で形成される。Kepler と Tove (1967) は、第一胃細菌の *butyrivibrio fibrisolvans* によるリノール酸の生物学的水素添加で最初に形成される中間産物がシス-9、トランス-11 18 : 2であることを示した (図 1)。この初期反応では、シス-9、トランス-11 イソメラーゼによるシス-12 二重結合のトランス-11 への異性化が起こる。次の段階では、このジエンがトランス-11 モノエン (トランス-11 18 : 1) へと変換する。これらの初期段階は急速に進行する。トラ

ンズ-11 18 : 1 から 18 : 0 への変換には異なる微生物群が関わっているようであり、ややゆっくりと進行する (Griinari ら, 1997)。そのため、典型的にトランス-11 18 : 1 は第一胃内に蓄積する。トランス-11 18 : 1 とシス-9, トランス-11 18 : 2 は乳脂肪中のトランス脂肪酸の約 50% を占める (Griinari ら, 1998)。乳牛に給与される粗飼料と穀類は、リノール酸 (18 : 2) とリノレン酸 (18 : 3) の含量が比較的高いのが特徴である。オレイン酸 (18 : 1 シス-9) も反芻動物用飼料に典型的に認められる脂肪酸である。この脂肪酸は主としてステアリン酸へと水素化され、第一胃で CLA の前駆物質とはならない。ただし、オレイン酸は第一胃細菌によってトランス 18 : 1 異性体に変換され得ることが示されている (Mosely ら, 2001)。

図1. 牛におけるCLAの形成



CLA が第一胃内で形成されることは知られているが、牛乳に存在するシス-9, トランス-11 CLA の多くは実際には乳腺内で 18 : 1 トランス-11 から合成される (Griinari および Bauman, 1999)。これが可能なのは、シス-9 二重結合を 18 : 1 トランス-11 に添加してシス-9, トランス-11 CLA を作り出せる酵素であるステアロイル-CoA デサチュラーゼ (Δ^9 -デサチュラーゼ) の作用による。

CLA の起源に関係なく、飼料によって第一胃内の CLA または 18 : 1 トランス-11 の産生を増加させることによる CLA の増量には、やはり生物学的水素添加過程の操作が鍵となる。反芻動物のミルクと肉には、反芻動物以外の動物のものより CLA 含量が高い (表 1)。全乳の CLA 含量は一般に脂肪 1 g 当たり約 4.5~5.5 mg あるが、そのばらつきは脂肪 1 g 当たり 2.5~18 mg にもなり得ることが報告されている。ある研究者は品種によって差異のあることを報告している。White ら (2001) は、ホルスタインはジャージーに比べてミルクの CLA 濃度が高い傾向にあることを見出した。別の試験では、ブラウンスイスのミルクの方がホルスタインのミルクよりも CLA 含量が高いと報告されたが、ブラウンスイスのミル

クは飼料の操作に対する反応性が劣るようであった (Whitlock ら, 2001) 。品種によるこの差異の多くは、おそらく Δ^9 -デサチュラーゼの相違によって説明できる。乳牛の年齢と泌乳期の段階もミルクの CLA 含量に多少影響すると思われるが、これらのパラメータの影響はまだ十分に解明されていない。肉と乳製品の CLA 含量は、加工、貯蔵または調理を経てもほとんど変化しないため、食品中の濃度は主として原材料の濃度によって決まる。

表 1. 各種食品の CLA 含量

食品	総 CLA 含量 (mg/g 脂肪)
乳製品	
ホモ牛乳	5.5
バター脂肪	4.7
モッツァレラチーズ	4.9
プレーンヨーグルト	4.8
アイスクリーム	3.6
肉類	
牛挽肉	4.3
ラム	5.6
豚肉	0.6
鶏肉	0.9
鮭	0.3
七面鳥挽肉	2.5

出典：Chin ら, 1992

ミルクの CLA 濃度を高める方法

人体の健康に CLA が有益となることから、多くの研究者が牛乳脂肪中の CLA 濃度を高める方法を探り始めた。この目標を達成するための実用的なアプローチとしては、2 つの方法が考えられる。第一は飼料の調節によって乳牛における CLA の自然な産生を増やすアプローチで、第二は何らかの方法で第一胃微生物による生物学的水素添加から保護した合成 CLA 異性体を給与するアプローチである。

飼料の調整 牛乳脂肪中の CLA 濃度は、採用した給与方法によって大きく異なる。脂肪の添加によって産生される CLA の量と CLA 異性体の種類は、第一胃の状態と第一胃微生物による油の利用可能性によって大きく変動する。Chouinard ら (2001) は、加工大豆、特にエクストルード加工した大豆を給与すると、粉末大豆の場合に比べてミルクの CLA が増加することを示した。エクストルード加工は種子を破裂させるため、第一胃での生物学的水素添加に利用できる油が多くなると考えられる。飼料への魚油の添加も牛乳の CLA 濃度を高めることが認められており、対照飼料では 0.2~0.6%であったものが、添加飼料では 1.5~2.7%に上昇した (Chilliard らの総説, 2001) 。ただ、魚油は一般に炭素を 20 個以上持つ

脂肪酸（特に 20 : 5 と 22 : 6）が豊富だが、意外に 18 炭素の多価不飽和脂肪酸は少なかった。これは、おそらく添加した魚油が、基本飼料からの 18 : 2 および 18 : 3 の生物学的水素添加、具体的にはトランス-11 18 : 1 から 18 : 0 への変換を妨害したためと考えられる。魚油の添加は、第一胃におけるトランス-オクタデカン酸の産生を増加させることが示されている（Pennington および Davis, 1975; Wonsil ら, 1994）。さらに、魚油添加を用いたミルクの CLA 値に関する試験では、CLA の増加がほぼシス-9, トランス-11 異性体に限られることが示された（Chilliard ら, 1999; Offer ら, 1999）。したがって、魚油を 18 : 2 または 18 : 3 の供給源とともに給与すると、18 : 2 または 18 : 3 のみの場合に比べてミルクの CLA 濃度の上昇ははるかに大きくなると予想される。

酪農研究技術センターの泌乳期ホルスタイン牛 28 頭を用いて、我々は、飼料の調整により以前に到達した CLA 含量をより高めることができるかどうかを判定するための給与試験を実施した（Bell ら, 2006）。最初の 8 日間は全ての牛に对照（CTL）飼料を給与した（馴致）。その後、牛を 4 群に分け、各群に次の 4 種類の飼料のうちのいずれかを 15 日間給与した（処置期間）：（1）对照（CTL）、（2）モネンシンを 24 ppm で含有する对照飼料（MON）、（3）紅花油を 6% DM で含有する对照飼料（SAFF）、（4）6% DM の紅花油および 24 ppm のモネンシンを含有する对照飼料（SAFF/M）。乳量を毎日記録し、馴致期間と処置期間の最後の 2 日間にミルクサンプルを採取し、乳糖率、蛋白質率、脂肪率、および脂肪酸組成を分析した。

乳量と蛋白質率および蛋白質合成量には処置による影響は現れなかった（表 2）。乳糖合成量は処置ごとに有意に異なることはなく、乳糖率は正常範囲内であったが、CTL と SAFF は MON と SAFF/M よりも乳糖率が低い傾向を示した。脂肪率と脂肪合成量はともに処置による有意な影響を示した。MON、SAFF、および SAFF/M 処置では CTL よりも乳脂率が低くなり、紅花飼料による低下が大きかった。

アルバータ州で給与されている代表的飼料である CTL 飼料では、シス-9, トランス-11 CLA 濃度が 0.45% の乳脂肪となり、これは全乳について典型的に報告されているものと同様であった。SAFF/M 飼料を給与した乳牛は CLA が 5.15% の乳脂肪を産生し、これは CTL 飼料の 10 倍以上であった。脂肪合成量は SAFF/M 処置の方が低かったが、CLA 合成量は CTL 処置の約 9 倍であった。SAFF および SAFF/M 飼料を給与した牛では、そのミルクのトランス脂肪酸（特に 18 : 1 トランス-11）レベルも有意に高かった。10 年ほど前から、トランス脂肪酸（TFA）が冠動脈心疾患（CHD）の発症に寄与することを示唆する証拠が蓄積されてきている。複数の研究により、CHD の重要な危険因子と考えられている血中コレステロール濃度の上昇を TFA が引き起こすことが明らかにされている。Willett ら（1993）が報告した 8 万人の女性を 8 年間追跡した試験では、高い TFA 摂取量と冠動脈心疾患の間に関連性が認められた。これがきっかけとなり、食品の包装への TFA の表示が義務づけられた。食品に含まれる TFA の約 75~80% は、焼いた食品、ある種のマーガリン、および揚げ物に見られるような部分的に水素化された植物油に由来する（Allison ら,

1999)。ただし、Willett ら (1993) が報告した試験では、TFA と CHD の関連性は工業的に水素化された脂肪からの TFA に限られ、動物由来の TFA は CHD と相関しないことが示されている。

表 2. 対照飼料 (CTL)、24 ppm のモネンシンを含有する対照飼料 (MON)、6%DM の紅花油を含有する対照飼料 (SAFF)、あるいは 6%DM の紅花油および 24 ppm のモネンシンを含有する対照飼料 (SAFF/M) を給与した牛の産乳量およびそのミルクの組成

	飼料				sem
	CTL	MON	SAFF	SAFF/M	
乾物摂取量 (DMI) kg/日	20.45	20.25	18.39	19.52	0.74
乳量, kg/日 ²	26.87	27.58	26.78	27.83	1.48
脂肪率, % ³	4.02 ^a	3.57 ^a	2.83 ^b	2.95 ^b	0.16
脂肪生産量, kg/日	1.05 ^a	0.97 ^a	0.74 ^b	0.81 ^b	0.05
蛋白質率, %	3.32	3.38	3.11	3.23	0.10
蛋白質生産量, kg/日	0.87	0.92	0.82	0.88	0.05
乳糖率, %	4.30	4.54	4.26	4.50	0.09
乳糖生産量, kg/日	1.13	1.24	1.14	1.24	0.08
CLA	0.45 ^a	0.52 ^a	3.36 ^b	5.15 ^c	0.23

a,b,c 同一行内の異なる上付文字が付いた数値同士は有意に異なっている ($P < 0.05$)。

² 処置期間の最後の 8 日間の平均乳量。

³ 脂肪、蛋白質、および乳糖の数値は、処置期間の最後の 2 日間に採取したミルクの平均値である。

反芻動物の脂肪は、高コレステロール血症をもたらす飽和脂肪酸含量が高いことから血中コレステロールの上昇に関連するとされている。我々の試験では、CLA を増加させる飼料によって飽和脂肪酸の低下も生じた。SAFF と SAFF/M のミルクは CTL または MON のものより 14 : 0 が約 33~35% 低く、16 : 0 が 41~44% 低かった。また、18 : 1 シス-9 濃度は約 50% 上昇した。特に 14 : 0 と 16 : 0 は血中コレステロールの上昇に関連するとされているため、これは好ましい変化であると言える。一方、18 : 1 シス-9 にはコレステロール低下作用があると考えられている。総合すると、この試験では、乳脂肪を調節することで脂肪酸組成をより好ましいものにできることが示された。さらに我々は、飼料の調整によって CLA 濃度がかなり高まったミルクを生産できることを実証した。

アルバータ大学での追跡試験では、上記の結果が実証され、さらに拡大されている。他の油実類についても、ミルクの CLA 濃度を高める性能を試験した。最も有効だったのは、高 18 : 2 n-6 の油実類であるリノーラ、紅花、およびヒマワリであった。加工した全粒種子を使うよりも、油として 18 : 2 n-6 を供給する方が一般に効果が高かった。ただし、加工して

いないヒマワリの全粒種子を用いた試験では例外が認められ、ヒマワリ油を用いた場合と同様のミルク中 CLA 濃度が得られた。

CLA 強化ミルクから作ったバターにはミルクの CLA 含量が反映されており（表 3）、対照バターよりも軟らかく塗りやすいものとなった。ミルクの CLA の強化を目的とした飼料給与方法をさらに高度化するための試験が現在進行中であり、その結果として得られる乳製品も試験されている。また、第一胃における生物学的水素添加過程と乳脂肪に CLA が組み込まれる生物学に関する知見を広げるための試験も進められている。これらの試験には、種々の飼料に反応した第一胃微生物群の変化の分析と、乳腺における CLA 形成に関する生化学的経路の調査、さらに各 CLA 強化処置で見られる個体差の原因の特定が含まれている。

表 3. 対照飼料、またはリノーラ種子、リノーラ油、キャノーラ種子、亜麻仁、紅花油、大豆油、ヒマワリ油を含む対照飼料を給与した乳牛からの乳脂肪、バターミルク、およびバターの CLA 含量

処置	ミルク	バターミルク	バター
対照	0.65	0.65	0.66
リノーラ種子	2.03	2.25	2.22
リノーラ油	3.22	3.69	3.18
キャノーラ種子	0.63	0.72	0.75
亜麻仁	0.88	1.12	0.88
紅花油	2.18	2.24	2.18
大豆油	1.29	1.38	1.32
ヒマワリ油	3.33	3.47	3.27

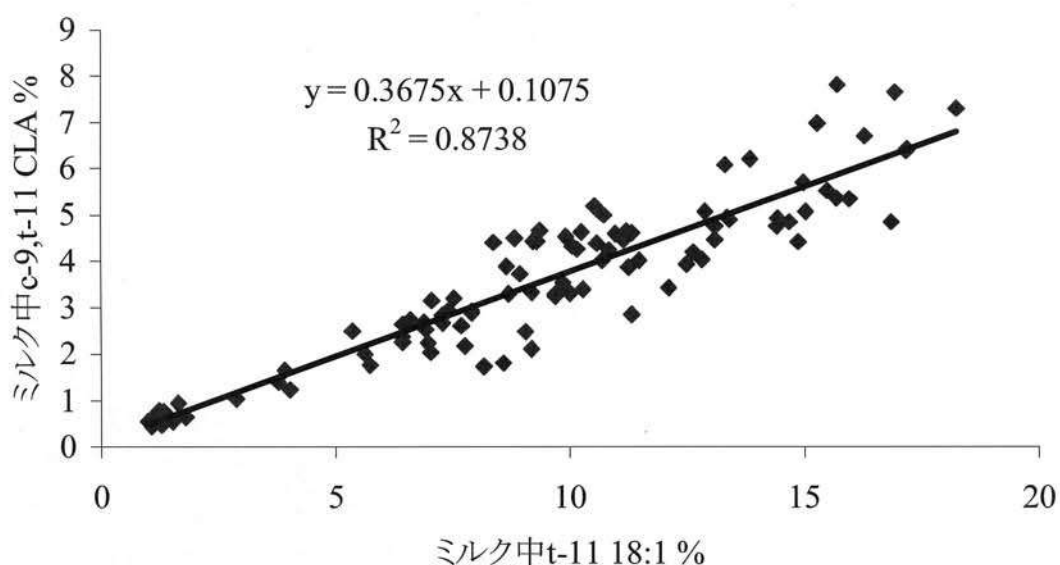


図 2. 乳脂肪のシス-9, トランス-11 CLA とトランス-11 18:1 の関係

合成 CLA の給与 CLA 異性体混合物は、乳脂肪合成に対して阻害作用を持つことが示されている (Loror および Herbein, 1999; Chouinard ら, 1999)。トランス-10, シス-12 CLA がこの作用を持つことも示されている (Baumgard ら, 2000)。最大 14 g/日のレベルでトランス-10, シス-12 を乳牛の第四胃に 5 日間注入すると、乳脂肪合成量と乳脂率が用量依存的に低下した (Baumgard ら, 2001)。Griinari ら (1999) も、乳脂肪を低下させる飼料を給与した場合のトランス-10, シス-12 の第一胃内濃度と乳脂率が負の相関を示すことを明らかにした。この乳脂肪の低下には、アセチル Co-A カルボキシラーゼ (ACC) および脂肪酸シンターゼ (FAS) 活性ならびに ACC mRNA の存在量の低下が関係している (Piperova ら, 2000)。一部の市場条件下では、乳脂肪を低下させる方法としての第一胃保護 CLA 異性体混合物の使用が、ミルクの蛋白質対脂肪比を高める物質として有用と思われ (Griinari および Bauman, 2001)、泌乳初期の乳牛のエネルギー収支を改善させる可能性がある

(Bernal-Santos ら, 2001)。CLA のカルシウム塩を用いた給与試験では、これが乳脂率を低下させる有効な方法であることが実証されている (Giesy ら, 1999; Sippel ら, 2001)。ヤギを用いた試験では、CLA をホルムアルデヒドで処理したカゼインに封入することにより CLA を第一胃での消化から保護できることも示された (Gulati ら, 2000)。トランス-10, シス-12 異性体に動物の体脂肪を低下させる機能があることを受けて (Park ら, 1999)、この異性体が人の体重減少に有益かどうかに関心が寄せられている。

我々は、産乳量とミルクの組成に対する合成 CLA の影響を評価した (Bell および Kennelly, 2003)。4 頭のホルスタイン乳牛の第四胃に (1) 脂肪を注入しない対照 (CTL)、(2) 150 g/日の合成 CLA、31.7% c-9, t-11; 30.4% t-10, c-12 (CLA)、(3) 150 g/日の紅花油 (SAFF)、および (4) 150 g/日の牛脂 (TALL) を注入した。注入は 4×4 のラテン方格法を用いて 1 日あたり 20~22 時間で 11 日間実施した。合成 CLA の注入では、産乳量とミルクの組成に劇的な影響が現れた (表 4)。CLA 注入期間の最後の 2 日間の産乳量は、他の処置に比べて 35~40% 少なかった。乳糖と脂肪の率と生産量も、CLA 注入では有意に低かった。CLA 注入での蛋白質率は他の処置に比べて有意に高かったが、蛋白質生産量は低かった。CLA 注入の結果として、CLA 異性体の濃度は有意に上昇した。リノール酸 (18:2) の濃度は紅花油 (リノール酸 76%) の注入で有意に上昇した。CLA 注入によって乳脂肪生産量が低下したため、CLA 処置ではすべての脂肪酸 (CLA を除く) の生産量が有意に低下した (データは示していない)。

表 4. 対照 (CTL)、牛脂 (TALL)、紅花油 (SAFF)、または共役リノール酸 (CLA) を第四胃に注入した乳牛の産乳量とミルクの組成

	CTL ²	TALL	SAFF	CLA	Sem
乳量 (kg/日) ¹	24.2 ^a	23.0 ^a	26.6 ^a	15.0 ^b	1.928
乳糖率 (%)	3.86 ^a	3.86 ^a	4.04 ^a	3.36 ^b	0.075
乳糖生産量 (kg/日)	0.94 ^a	0.90 ^a	1.07 ^a	0.45 ^b	0.074
脂肪率 (%)	2.36 ^a	2.46 ^a	2.39 ^a	1.66 ^b	0.117
脂肪生産量 (kg/日)	0.53 ^a	0.54 ^a	0.62 ^a	0.21 ^b	0.035
蛋白質率 (%)	3.04 ^a	2.98 ^a	3.14 ^a	4.35 ^b	0.191
蛋白質生産量 (kg/日)	0.70 ^{ab}	0.65 ^a	0.82 ^b	0.55 ^a	0.047

同一行内の異なる上付文字が付いた数値同士は有意に異なっている ($P < 0.05$)。

¹ 期間の最後の 2 日間の 1 日あたりの平均乳量。

² CTL は対照 (脂肪の注入なし) ; TALL は 150g/日の牛脂を注入 ; SAFF は 150g/日の紅花油を注入 ; CLA は 150g/日の合成 CLA を注入。

最も興味深いのは、体細胞数 (SCC) に対する処置の影響であった。CLA 注入では、SCC が健康な乳牛の正常値とみなされた他の処置に比べて約 5~7 倍となった。体細胞数とは、ミルクに含まれる白血球と剥離した上皮細胞の数をいう。高い体細胞数は一般に乳腺の感染を意味する。ただし、CLA 注入で観察された高い SCC の原因は感染ではなかったと考えられる。高い SCC が観察されたのは、牛に CLA 注入を行っている期間のみであった。CLA 注入の前後の期間のミルクでは、SCC が常にはるかに低かった。感染を示すと思われる身体症状、たとえば乾物摂取量への影響は現れなかった。さらに、実験期間中に泌乳期乳房炎を認められるような症状はまったく発生しなかった。ミルクの細菌分析における *Streptococcus/Enterococcus* 数は原乳の正常範囲内に十分に収まっており、*Staphylococcus aureus* の徴候は認められなかった。ただ、ミルクのシス-9, トランス-11 CLA が大きく増加した我々の上記の給与試験では、この種の影響は観察されなかった (Bell ら, 2006)。このことは、合成製品で観察される影響がトランス-10, シス-12 異性体によるものであることを示唆していると考えられる。すでに考察したとおり、CLA のトランス-10 異性体には乳脂肪合成に対する強力な阻害作用がある。1 日あたり 150 g の CLA を 11 日間注入した我々の試験では、脂肪含量の低下だけでなく以前の CLA 注入では認められていなかったその他の変化も生じた。すなわち、CLA 注入によって乳糖の濃度が低下し、これはナトリウム濃度の上昇によって埋め合わされていた。CLA 注入によって蛋白質と塩化物の濃度の上昇も見られた。ここで観察された変化は、乳腺退縮の初期に見られるものと同様であった。単なる推測に過ぎないが、これらの合成 CLA 異性体の注入が乳腺の乾乳メカニズムを開始させていた可能性がある。これらの CLA の泌乳に対する興味深い影響をさらに探索するために、さらなる試験が必要である。

この試験では、CLA 異性体の第一胃バイパス投与によってこれらの脂肪酸のミルク中濃度を有意に高め得ることが実証された。ただ、乳量とミルクの組成に対して見過ごせない他の影響があるために、CLA のトランス-10 異性体の強化可能範囲には限界があることも示された。このことは、人の食糧により多くのトランス-10, シス-12 CLA を供給する担体としての牛乳の利用可能性に対する制約になるかもしれない。

健康に対する CLA の潜在的効果

抗発癌活性が実証されている天然物質の大部分は植物由来であり、ごく微量にしか存在しない (Wattenberg, 1992)。それに対して CLA は、ほぼ完全に動物製品にしか認められない。動物モデルでは、CLA は天然の抗発癌物質の中で最も強力な部類に含まれることが示されている。この脂肪酸は、1979 年に Michael Pariza の研究室で発見された。彼は牛挽肉に含まれる抗発癌性化合物を突き止め、さらにこの化合物が CLA であると同定した (Pariza ら, 1979, Pariza および Hargreaves, 1985)。抗発癌作用が実際に CLA によるものであることを証明するため、彼らは合成 CLA 異性体混合物をマウスの腫瘍モデルで試験した。CLA で処置したマウスが発症した乳頭腫は対照マウスの約半数に過ぎず、腫瘍の発生率も低くなった (Ha ら, 1987)。この研究を皮切りに、CLA に関する研究が次々と行われるようになった。

以来、共役リノール酸はマウスの皮膚の発癌、マウスの噴門洞の腫瘍発生、およびマウスの乳腺の腫瘍発生という実験動物モデルで有効性が示されてきている (Belury, 1995, 2002)。In vitro では、乳腺腫瘍細胞、悪性黒色腫、結腸直腸癌細胞、白血病、前立腺癌、および卵巣癌に有効であった (Scimeca, 1999)。これは、in vitro の乳癌細胞 (Shultz ら, 1992) および in vivo のラットで化学的に誘発した乳腺腫瘍 (Ip ら, 1994) において実証されているとおり、用量依存的に作用するようである。飼料 100 g あたり 0.05 g という少量の CLA を給与しただけで、乳腺腫瘍の数が減少した (Ip ら, 1994)。Ip ら (1999) は、ラットの乳腺腫瘍に対する CLA 強化バターの作用を評価した。このバターは 4.1% の CLA を含有し、その 92% がシス-9, トランス-11 異性体であった。その結果、CLA 強化バターがラットの乳腺腫瘍の発生を 53% 阻害することが示された。この試験は、反芻動物が産する主要な異性体であるシス-9, トランス-11 異性体が抗発癌性を持つことを明白に示した。その他の研究報告は、CLA が抗癌性以外にも生理作用を示し得ることを示唆している。その作用には、アテローム性動脈硬化症の低減効果 (Nicolosi ら, 1997) や糖尿病治療における効果 (Houseknecht ら, 1998) が含まれる。CLA 異性体は、成長期の動物の体脂肪を減らし、体蛋白質を増やすこと (Park ら, 1997)、家禽における免疫誘発性の筋肉消耗に対抗すること (Cook ら, 1993)、および骨形成を増進すること (Watkins ら, 1999) も示されている。これまでに実施された試験のほとんどは、CLA 異性体の組成が異なる合成 CLA 製剤を使用している。今では、肥満、骨疾患、腎疾患、神経筋疾患、心疾患およびアテローム性動

脈硬化症といった複数の疾患状態における個別の異性体の効果の検討へと研究が拡大されつつある (Procter ら, 2004; Taylor ら, 2004; Anderson および Aminot-Gilchrist, 2004)。

すでに述べたとおり、ミルクの CLA 濃度を高めるようにデザインされた飼料は、ミルクのトランス-11, 18 : 1 もかなり上昇させる。初期の研究結果は、このトランス脂肪が人の健康に対する CLA の好ましい影響の一部を担っていることを示唆していた。最近の研究では、トランス-11 18 : 1 がマウスの乳腺腫瘍に対して強力な抗発癌作用を示すことが実証されている。トランス-11 18 : 1 が豊富な飼料は、正常な乳腺細胞には影響せず、腫瘍形成を最大 50% 阻害した (Lock ら, 2004)。ただし、食品中の TFA の問題には異論があり、さらなる調査が必要であることははっきりしている。食品の表示に TFA を加え、TFA の摂取量を減らすようにとの最新の栄養学的助言を併記することが計画されているが、この表示と「高トランス」CLA 強化ミルクの推進とを同時に目にした消費者は確実に混乱してしまう。これは、CLA 強化乳製品の開発に当たって考慮しなければならない重要問題である。

Designer Milk CLA 強化乳製品—新製品のチャンス？

前段は CLA 強化ミルク生産の可能性を紹介した。次に、CLA の強化が達成されたとして、そのレベルで実際にそのミルクを飲んだ人に有益となるのか、という重要な疑問が生じる。北米における CLA の摂取量は 1 日あたり 52~137 mg と推定されている (Ritzenenthaler ら, 1998)。動物実験から推測すると、人体で抗発癌効果を発揮するために必要な CLA 摂取量は 1 日あたり 3 g にも上ることが示唆されるが (Ip ら, 1994)、直接推測すると健康上の有益をもたらすために必要な CLA の摂取量をかなり過大評価してしまうことを示す証拠も増えてきている (Ma ら, 2000)。SAFF/M 飼料で達成された CLA パーセンテージ (表 2) を利用すると、全乳 (420mg CLA) およびバター (334mg CLA) とチェダーチーズ (660mg CLA) を使ったサンドイッチの食事なら、1 食で 1414 mg の CLA を供給できることになる。この例は、CLA を強化したミルクと乳製品により、非現実的な食習慣の変更を行う必要もなく、健康に役立つレベルの CLA を食事から摂取できることを示している。

もちろん、消費者は市販されている錠剤の合成 CLA を摂ることで CLA の摂取量を増やすこともできる。これらの製品の CLA とミルクの CLA の主な違いは、合成 CLA 製品の方が含有する異性体の種類が多い点にある。これらの CLA 異性体と反芻動物の乳脂肪に存在する CLA の人体の健康に対する相対的な価値は明らかではない。しかしながら、乳牛の飼料の調整によって産生された CLA 強化ミルクの方が、「天然」CLA を供給できるという点で優れている。また、ミルクはすでに広く普及し、消費者は店頭で広範な乳製品を目にするのに十分慣れ親しんでいるため、CLA 強化ミルクの方が世間に受け入れられやすいと言える。課題は、乳脂肪と健康に関する既存の大衆の認識を変えることにある。

第二の課題は、新製品開発への投資を増やすよう乳加工分野を説得することにある。酪農業が永続的に営めるかどうかは、絶えず変化する消費者の要求に応えられる製品を生産することにかかっている。食品の健康面に関する消費者の意識はどんどん高まってきている。共役リノール酸強化ミルクは、健康に対する乳脂肪の影響を懸念してミルクとバターなどの乳製品を敬遠してしまった人には魅力的かもしれない。しかし、CLA 強化ミルクのような新製品を導入するにはマーケティングへの多大な投資が必要であり、それが生き残れるだけの消費者の関心を十分に集められるという保証もない。CLA 濃度を増強するために必要な特殊なサプリメントを給与するよう生産者の意欲を高めるためには、ミルクに特別料金を上乗せする必要がある。

Designer Milk 結論

健康増進に役立つ食品中の脂肪酸濃度を高めるという考えは、決して新しいものではない。オメガ-3 脂肪酸を強化した卵やミルクの導入がその良い例である。これは、健康を増進してくれる食品を選びたいという消費者の希望が高まる傾向にあることを示している。栄養素を利用した乳脂肪の組成の調節には、計り知れない可能性が潜んでいる。さらに、予想外の発見として、CLA に強力な健康増進作用があることも明らかになっている。CLA や乳製品に含まれるその他の有益となり得る脂肪酸の濃度を高めることができれば、ミルクとヨーグルト、バター、チーズなどの乳製品に、画期的な新しい市場が実現できるようになる。

Designer Milk 参考文献

- Allison, D.B., Egan, S.K., Barraj, L.M., Caughman, C., Infante, M. and Heimbach, J.T. (1999) Estimated intakes of trans fatty and other fatty acids in the US population. J. Am. Diet. Assoc. Vol. 99, 2:166-174.
- Anderson, H.D.L and Aminot-Gilchrist, D.V. (2004). Effect of CLA on cardiac ventricular myocyte hypertrophy. Conference abstract. CLA in human health: mechanisms and markers.
- Baumgard, L.H., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Sæbø, A., Bauman, D.E. (2000) Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. American Journal of Physiology, 278:R197-R184).
- Baumgard, L.H., Sangster, J.K., Bauman, D.E. (2001) Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of tran-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). Journal of Nutrition, 131:1764-1769.

- Belury, M.A. (1995) Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutrition reviews*, vol 53, no. 4:83-89.
- Bell J.A. and Kennelly J.J. (2000) Producing conjugated linoleic acid enriched milk through practical dairy nutrition. Conference abstract: 8th World Congress on Clinical Nutrition, Bangkok, Thailand. December 17-20, 2000.
- Bell, J.A. and Kennelly, J.J. (2003) Short communication: Post-ruminal infusion of conjugated linoleic acids negatively impacts milk synthesis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 86:1321-1324.
- Bell, J.A. Griinari, J.M., Kennelly, J.J. (2006) Effect of safflower oil, flaxseed oil, Monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 89:733-748.
- Bequette, B.J., Backwell, F.R.C., Crompton, L.A. (1998). Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *J. Dairy Sci.* 81:2540-2559.
- Chilliard, Y., Chardigny, J.M., Chabrot, J., Ollier, J., Sébédio, J.L., Doreau, M. (1999) Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supply on conjugated linoleic acid (CLA) content of cow milk fat. *Proc. Nut. Soc.*, 58:70A.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. (2001) Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Prod. Sci.* 70:31-48.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W. (1992) Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.* 5:185-197.
- Chouinard, P.Y., Corneau, L., Barbano, D.M., Metzger, L.E., Bauman, D.E. (1999) Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *Journal of Nut.* 129:1579-1584.
- Chouinard, P.Y., Corneau, L., Butler, W.R., Chilliard, Y., Drackley, J.K and Bauman, D.E. (2001) Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84:680-690.
- Cook, M.E., Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W. (1993) Immune modulation by altered nutrient metabolisms: nutritional control of immune-induced growth depression, *Poultry Sci.* 72: 1301-1305.
- Corl, B.A., Baumgard, L.H., Dwyer, D.A., Griinari, J.M., Phillips, B.S., Bauman, D.E. (2000) The role of Δ^9 -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA and other Δ^9 desaturated fatty acids. *Proceedings of the 2000 ADSA/ASAS Joint meeting*, Page 164.
- Dhiman, T.R. (2000) Conjugated linoleic acid: A food for cancer prevention. *Feedstuffs*, May 1, 2000: 24-32.

- Doepel, L., Pacheco, D., Kennelly, J.J., Hanigan, M.D, Lopez, I.F., Lapierre, H. (2004) Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. *J. Dairy Sci.* 87:1279-1297.
- Giesy, J.G., Viswanadha, S., Hanson, T.W., Falen, L.R., McGuire, M.A., Skarie, C.H., Vinci, A. (1999) Effect of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on estimated energy balance of early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82 (suppl. 1): 74.
- Griinari, J.M., Chouinard, P.Y., Bauman, D.E. (1997) Trans fatty acid hypothesis of milk fat depression revised. *Proceedings Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers* Pages 208-216. 59th Cornell Nutrition Conference, Ithaca, New York, 1997.
- Griinari, J.M., Dwyer, D.A., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Palmquist, D.L., Nurmela, K.V.V. (1998) Trans-octadecanoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1251-1261.
- Griinari, J.M. and Bauman, D.E. (1999) Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk of ruminants. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1*, Eds. Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. AOCS press, Illinois, Chapter 13, pages 180-200.
- Griinari, J.M. and Bauman, D.E. (2001) Production of low fat milk by diet induced milk fat depression. *Proceedings of the 2001 Western Canadian Dairy Seminar: Advances in Dairy Tech.* 13:197-212.
- Griinari, J.M., Nurmela, K., Dwyer, D.A., Barbano, D.M., Bauman, D.E. (1999) Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. *J. Anim. Sci.* 77 (suppl. 1):117.
- Gulati, S.K., Kitessa, S.M., Ashes., J.R., Fleck, E., Byers, E.B., Byer, Y.G., Scott, T.W. (2000) Protection of conjugated linoleic acids from ruminal hydrogenation and their incorporation into milk fat. *Animal Feed Sci. and Tech.* 86: 139-148.
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W. (1987) Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. Vol. 8 no. 12:1881-1887.
- Hanigan, M.D., Cant, J.P., Weakley, D.C., Beckett, J.L. (1998) An evaluation of postabsorptive protein and amino acid metabolism in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 81:3385-3401.
- Houseknecht, K.L., Vanden Heuvel, J.P., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero, C.P., Peck, L.W., Nickel, K.P., Belury, M.A. (1998) Conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244: 678-682.
- Hristov, A.N. Price, W.J. Shafii, B. (2004) A meta-analysis examining the relationship among dietary factors, dry matter intake, and milk and milk protein yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2184-2196.
- Ip, C., Banni, S., Angioni, E., Carta, G., McGinley, J., Thompson, H., Barbano, D., Bauman, D. (1999) Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. of Nutr.* 129:2135-2142.

- Ip, C., Singh, M., Thompson, H.J., Scimeca, J.M. (1994) Conjugated linoleic acid suppresses carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research*, 54:1212.
- Kennelly, J.J., Robinson, B., Khorasani, G.R. (1999) Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 82:2486-2496.
- Kepler, C.R., Tove, S.B. (1967) Biohydrogenation of unsaturated fatty acid. *J. Biol Chem.* 242: 5686-5692.
- Lor, J.J., Herbein, J.H. (1998) Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. of Nutr.* 128: 2411-2419.
- Ma, D.W.L., Ens, J.G., Field, C.J., Clandinin, M.T. (2000) Conjugated linoleic acid: Methods, biological effects and mechanisms. *Res. Adv. In Oil Chemistry* 1:79-101.
- Nicolosi, R.J., Rogers, E.J., Kritchevsky, D., Scimeca, J.A., Huth, P.J. (1997) Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22:266-277.
- Offer, N.W., Marsden, M., Dixon, J., Speake, B.K., Thacker, F.E. (1999) Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 poly-unsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Animal Science*, 69:613-625.
- Pariza, M.W., Ashoor, S.H., Chu, F.S., Lund, D.B. (1979) Effects of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Letters*, 7:63-69.
- Pariza, M.W., Hargreaves, W.A. (1985) A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* Vol. 6 no.4:591-593.
- Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E., Pariza, M.W. (1997) Effects of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32:853-858.
- Pennington, J.A., Davis, C.E. (1975) Effects of intraruminal and intra-abomasal additions of cod-liver oil on milk fat production in the cow. *Journal of Dairy Science*, Vol.58, No. 1:49-55.
- Piperova, L.S., Teter, B.B., Bruental, I., Sampugna, J., Mills, S.E., Yurawecz, M.P., Fritsche, J., Ku, K., Erdman, R. (2000) Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. of Nutr.* 130:2568-2574.
- Scimeca, J.A. (1999). Cancer inhibition in animals. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1*, Eds. Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. AOCS press, Illinois, Chapter 34, pages 420-443.
- Shultz, T.D., Chew, B.P., Seaman, W.R. (1992) Differential stimulatory and inhibitory responses of human MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid and conjugated linoleic acid in culture. *Anticancer research*, 12:2143-2146.

- Sippel, M.A., Cant, J.P., Spratt, R. (2001) The use of rumen-protected conjugated linoleic acid to reduce milk fat percentage in lactating dairy cattle. Proceedings of the Joint meeting of the ADSA, AMSA, ASAS, and PSA Page 193.
- Taylor, C., Noto, A., Yurkova, N., Nitschmann, E. (2004). Interactions among fatty acid composition, Insulin sensitivity and fatty liver in CLA-fed fa/fa and lean zucker rats. Conference abstract. CLA in human health: mechanisms and markers.
- Watkins, B.A., Li, Y., Seifert, M.F. (1999) Bone Metabolism and Dietary Conjugated Linoleic Acid. In: Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1. Eds. Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, MW., Nelson, G.J. AOCS press, Illinois, Chapter 25, pages 327-339.
- Wattenberg, L.W. 1992. Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents. Cancer Research (suppl.) 52:2085-2091.
- Whitlock, L.A., Schingoethe, D. J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Baer, R.J., Ramaswamy, N., Kasperson, K.M. (2002) Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. J. Dairy Sci. 85:234-243.
- Willett, W.C., Stamper, M.J., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Rosner, B.A., Sampson, L.A., Hennekens, C.H. (1993) Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. The Lancet, Vol.341, March, 6 pages 581-585.
- Wonsil, B.J., Herbein, J.H., Walkins, B.A. (1994) Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. Journal of Nutrition, 124:556-565.

Designer
Milk

主催／北海道アルバータ酪農科学技術交流協会

〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582番地

TEL. 011-386-1292 FAX. 011-387-2805

E-mail: exc-alt@rakuno.ac.jp

後援／酪農学園大学エクステンションセンター