

総 説

反芻家畜由来の畜産物（牛乳，牛肉）中共役リノール酸（CLA）とその生理機能

田中 桂一

北海道大学大学院農学研究科，札幌市 060-8589

Conjugated linoleic acid (CLA) in foods (milk, beef) derived from ruminants and its physiological functions

Keiichi TANAKA

Graduate School of Agriculture, Hokkaido University,
Sapporo 060-8589

キーワード：反芻家畜，共役リノール酸（CLA），バクセン酸，乳脂肪，生理機能，抗ガン作用

Key words: ruminant, conjugated linoleic acid (CLA), vaccenic acid, milk fat, physiological function, anticarcinogen

1. はじめに

乳製品や牛肉のような反芻家畜由来の畜産物には飽和脂肪酸を多く含有し，不飽和脂肪酸が少ない。一般に，飽和脂肪酸の摂取量が多くなると血中の低密度リポタンパク質が高くなり，高コレステロール血症や肥満，それに伴う慢性心臓疾患などの生活習慣病のリスクが問題となり，高いレベルで飽和脂肪酸を含有している乳製品や牛肉の摂取量を減らすべきであるとヒトの栄養学立場から指摘され，国によってはこの様な畜産物の消費が伸び悩んでいる。そのため1990年代には畜産物中の脂肪酸組成をヒトの健康に良いように変える飼育方法の研究（畜産物中の多価不飽和脂肪酸，特に， α -リノレン酸のような n -3 系多価不飽和脂肪酸の増加など）が試みられ，鶏卵，鶏肉では成果を上げているが，反芻家畜では十分な成果が得られていなかった。しかし，最近になり，反芻家畜由来の畜産物（牛乳及び乳製品，牛肉など）中に含有している共役リノール酸（conjugated linoleic acid, CLA）に発ガン抑制作用があることが報告されて以来，リノール酸とはまったく異なる色々な生理機能が次々と認められており，牛乳がヒトの健康に有益であることが再確認され，アメリカなどでは消費が上昇し始めている。本総説では，反芻家畜由来の畜産物中 CLA の起源，さらに CLA の多様な生理活性作用についてまとめる。

2. CLA について

CLA はリノール酸の幾何及び位置異性体であり，共役ジエン構造を有するものの総称である。1935年に BOOTH *et al.* によって，放牧中乳牛の牛乳中から共役二重結合を持っている脂肪酸が初めて報告された。その後，PARODI (1977) によって牛乳中の CLA は主に *cis*-9, *trans*-11CLA であることが確認され，反芻家畜の第一胃内に由来することから，この異性体を第一胃酸（rumenic acid）とも呼ばれている。CLA は理論的には8個の位置異性体と4個の幾何異性体が存在するが， $\Delta 9$, 11位あるいは10, 12位に *cis* または *trans* 型の二重結合を持つものが多い。図1にリノール酸 (*cis*-9, *cis*-12C_{18:2})，*cis*-9, *trans*-11C_{18:2}，*trans*-10, *cis*-12C_{18:2} の構造を示す。

3. 牛乳中 CLA の起源

反芻家畜の第一胃内では飼料中脂肪は微生物によって速やかに加水分解を受け，遊離型脂肪酸になり，不

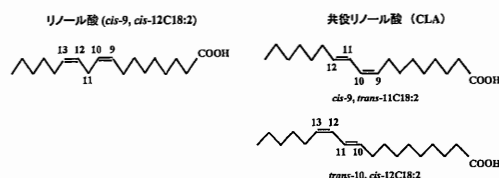


図1 リノール酸およびCLAの構造式

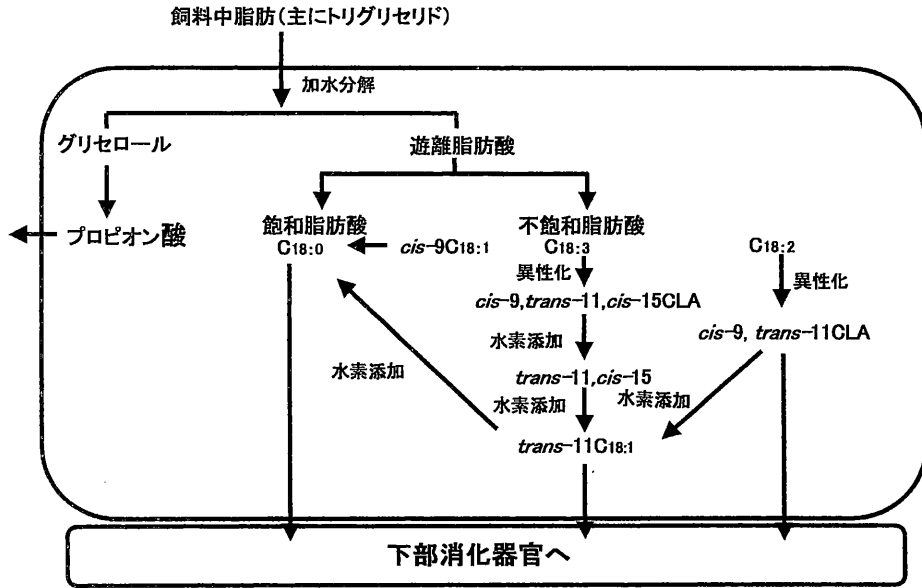


図2 第一胃内での脂質代謝

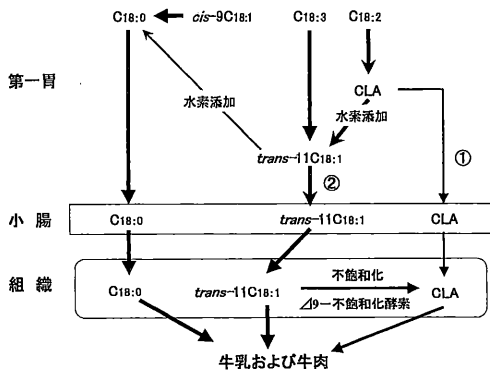


図3 第一胃および組織内でのCLA合成経路

飽和脂肪酸は水素添加を受ける。飼料中に多く含まれているリノール酸は第一胃内微生物によって異性化され、*cis*-9, *trans*-11CLA になり、続いて *cis*-9 の位置が水素添加され、*trans*-11C_{18:1} (バクセン酸)、さらに飽和脂肪酸であるステアリン酸 (C_{18:0}) になる。そして下部消化器官に送られ、吸収される (図2)。牛乳や牛肉中の CLA は植物油や油脂を多く含有している種子を給与することによって増加する (KELLY *et al.*, 1998; LAWLESS *et al.*, 1998; SOLOMON *et al.*, 2000) のは、飼料中のリノール酸が微生物によって水素添加される過程の中間代謝物質として生成される *cis*-9, *trans*-11CLA の一部が下部消化器官に移行し、吸収されて乳腺や脂肪組織に取り込まれるためと考えられていた (図3の①ルート)。しかし、ラット肝臓中のΔ9-不飽和化酵素はステアリン酸をオレイン酸に不飽和化するだけでなく、*trans*-11C_{18:1} を *cis*-9, *trans*-11C_{18:2} に変えること (MAHFOUZ *et al.*, 1980; POLLARD *et al.*, 1980) および泌乳牛の第四胃内に *trans*-11C_{18:1} を投与することによって牛乳中 *cis*-9, *trans*-11CLA 含量が31%増加したという報告 (GRINARI *et al.*, 2000) から、もう

一つのルートとして (図3の②のルート)、第一胃内でリノール酸やα-リノレン酸は *trans*-11C_{18:1} まで代謝され、この段階で下部消化管から吸収され、乳腺や脂肪組織内にある不飽和化酵素 (Δ9-不飽和化酵素) によって *cis*-9 が不飽和化されて *cis*-9, *trans*-11CLA に変換されるルートが考えられる。泉ら (2002) および AN *et al.* (2003) は第一胃フィステルを装着したヒツジにリノール酸およびα-リノレン酸を多く含有している油脂 (サフラワー油とアマニ油) あるいは種子を給与し、第一胃内容物中の遊離型脂肪酸含量 (内容物1g当たり) の変化を測定した。その結果、第一胃内での *cis*-9, *trans*-11CLA 含量は著しく低く (0.05 mg/g 以下)、一方、*trans*-11C_{18:1} は高い値 (0.3~0.4 mg/g) で推移した (図4と5)。このことはリノール酸およびα-リノレン酸から *trans*-11C_{18:1} への水素添加は、*trans*-11C_{18:1} からステアリン酸への水素添加に比べて速いことを示しており、リノール酸の水素添加経路の最初の間物質である *cis*-9, *trans*-11CLA は速やかに代謝され *trans*-11C_{18:1} になり、この脂肪酸が第一胃内で高い値で推移したと推察している。もし、牛乳や牛肉中の CLA が第一胃内で生成された CLA に多く由来しているルート①とすると第一胃内での CLA レベルが低すぎるので、畜産物中の CLA の相当部分は *trans*-11C_{18:0} を通るルート②であると考えられる。そうであるなら泌乳中乳牛にリノール酸を多く含有している油脂 (サフラワー油、ヒマワリ油、大豆油など) 給与だけでなく、水素添加経路に *cis*-9, *trans*-11CLA を持たないα-リノレン酸を多く含有している油脂 (アマニ油) 給与によっても乳脂肪中の CLA 含量が増加するという報告 (DHIMAN *et al.*, 2000) も説明できる。放牧主体の乳牛では、同量の脂肪含量の TMR あるいは貯蔵粗飼料 (乾草やサイレージ) 給与に比べて、

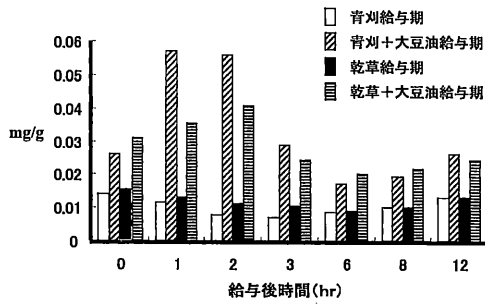


図4 第一胃内容物中のCLA含量 (mg/g) の経時的変化

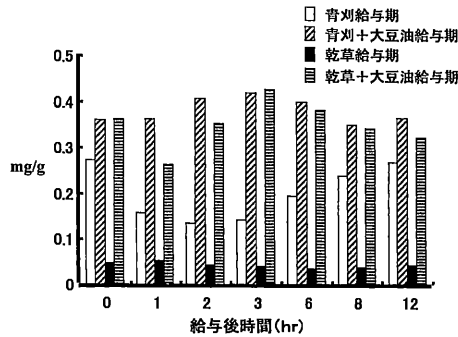


図5 第一胃内容物中のtrans-11C_{18:1} (mg/g) の経時的変化

乳脂肪中のCLA含量が高いことが報告されている (JAHREIS *et al.*, 1997; KELLY *et al.*, 1998; DHIMAN *et al.*, 1999). DHIMAN *et al.* (1999) は TMR 給与乳牛の牛乳ではCLA含量は3.8 mg/g milk fat に対して、放牧牛では約6倍の22.3 mg/g milk fat だったと報告している。その理由の一つは、牧草の主要な脂肪酸はリノール酸と α -リノレン酸であり、特に、 α -リノレン酸を約50%含有している。一方、乾草やサイレージに調製する際にこれらの脂肪酸は減少し、泉らの報告 (2002) では、乾草にすると α -リノレン酸は牧草の半分以下に、また、総脂肪酸含量も1/3に減少するために、乾草中 α -リノレン酸含量は乾物当りで約1/6に減少した (表1)。このように牧草には乾草よりCLAやtrans-11C_{18:1}の基質となる脂肪酸が多く含まれているためだろう。そのために青刈り牧草には調製した粗飼

表1 粗飼料及び大豆油の脂肪酸組成

脂肪酸	脂肪酸組成 (%)		
	青刈り草	乾草	大豆油
C _{16:0}	21.6	33.3	11.4
C _{18:0}	1.6	2.9	4.1
cis-9C _{18:1}	2.3	3.2	24.1
C _{18:2} (リノール酸)	15.5	17.8	50.9
C _{18:3} (α -リノレン酸)	48.2	24.9	6.2
Others	10.9	18.0	3.3
C _{18:2} +C _{18:3}	63.7	42.7	57.1
	mg/g DM		
総脂肪酸含量	20.0	6.8	

料よりリノール酸や α -リノレン酸を多く含有しており、牛乳中のCLA含量を増加させるのであろう。

4. 牛乳中CLA含量を増加させる飼養法

1) Trans-11C_{18:1} およびCLAの基質となる多価不飽和脂肪酸を多く含有している油脂の給与

KELLY *et al.* (1998) の報告によると、飼料中にピーナツ油 (高C_{18:1}含有)、ヒマワリ油 (高C_{18:2}含有) あるいはアマニ油 (高C_{18:3}含有) をそれぞれ53 g/kgDM 添加給与すると、牛乳中CLAはそれぞれ13.3, 24.4, 16.7 mg/g milk fat となり、ヒマワリ油添加区は無添加区の5倍含まれていた。また、CHOUINARD *et al.* (1998) の報告では、カノーラ油、大豆油あるいはアマニ油のCa塩を乾物当り4%を飼料に添加し給与すると、牛乳中CLA含量は、対照区 (無添加) 3.5 mg/g fat に対して、それぞれ13.0, 22.0, 19.0 mg/g milk fat と増加した。両報告ともに、リノール酸を多く含有している植物油を添加するとCLA含量が最も高い値を示した (図2の①と②の両ルートに由来)、 α -リノレン酸を多く含有している植物油添加によってもCLA含量は増加した (②のルート由来)。

BELL と KENNELLY (2000) は、28頭の泌乳牛を4グループに分け、4処理 (対照区、低脂肪飼料区、高脂肪飼料区AおよびB) を、1処理期間を15日間として実験をおこなった。結果を表2に示した。乳脂肪率

表2 色々な飼料給与時の泌乳牛の乳脂肪中C_{18:2}組成

C18:2脂肪酸	CTL	LF	HFA	HFB
C18:2 (cis-9, cis-12)	1.51 ^a	1.62 ^a	2.97 ^b	2.82 ^b
Cis-9, trans-11CLA	0.49 ^a	0.56 ^a	3.70 ^b	5.63 ^c
Trans-10, cis-12CLA	ND ^a	ND ^a	0.054 ^b	0.054 ^b
Trans/transCLA	0.033 ^a	0.046 ^a	0.15 ^b	0.17 ^b
Total CLA yield g/day	5.1 ^a	5.4 ^a	28.5 ^b	45.8 ^c

Within a row, values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

CTL: control, LF: low fat diet, HFA: high fat diet A, HFB: high fat B

BELL and KENNELLY (2000)

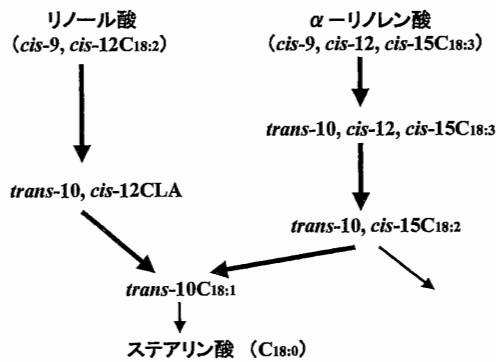


図6 濃厚飼料多給時の第一胃内でのC₁₈-不飽和脂肪酸の水素添加(推測)

は低脂肪飼料と高脂肪飼料で低下したが、高脂肪飼料区の低下が大きかった。乳脂肪中のCLA含量は対照区は0.49% (一般的なレベル) だったのに対して、高脂肪飼料区Bでは5.63% (対照区の約12倍) であり、この区は乳脂肪生産も低下しているが、それでも対照区の約9倍のCLAを含有していた。また、乳脂肪中のtrans-11C_{18:1}含量も増加していた。

粗濃比によっても牛乳中CLA含量が変化することが報告されている。KellyとBAUMAN (1996)は脂肪添加の際、粗濃比を50:50から20:80に変えると牛乳中CLA含量が1/2に低下したと報告している。その原因として、GRINARI *et al.* (1998)は濃厚飼料多給にすると第一胃内微生物相が変わり、多価不飽和脂肪酸の水素添加経路が変化し、trans-10C_{18:1}とtrans-10, cis-12C_{18:2}異性体の比率が多くなるためであるとしている(図6)。

この他、不飽和脂肪酸を多く含む油脂添加による牛乳中CLA増加に関する研究はこの数年間に多数の報告がある。

以上のように、牛乳中のCLA含量を増加させるためには、飼料中にCLAの基質となる多価不飽和脂肪酸が十分にあることである。

また、魚油(ニシン魚油2%)と一緒にエクストロッド大豆を乳牛に給与することによって、乳脂率は低下するが予想以上に乳脂肪中のCLAが増加(3倍以上)した(DONOVAN *et al.*, 2000)。ニシン魚油(1~3%)とトウモロコシ、大豆粕との組み合わせでも乳脂肪CLA含量は0.7 g/100 gfat (魚油無添加区)から2.53 g/100 fat (2%添加区)と約3.5倍高くなり、同時にn-3系多価不飽和脂肪酸も4倍以上高くなった。しかし、その機序については説明されていない(WHITLOCK *et al.*, 2002; ABUGHAZALE *et al.*ら, 2003)。

2) 保護脂肪の利用

CLAを下部消化器官に投与、あるいは保護CLA(protected CLA)を給与して増加させる研究報告がある。CLAはサフラワー油などから化学的に合成された

ものであり、いくつかの異性体が混合している。この合成CLAをCa塩(GIESY *et al.*, 1999)あるいはアルデヒド処理したカゼインで包み保護脂肪として給与した。この時、CLAの見かけ上の移行率は、乳牛の第四胃に注入したとき、22~34% (CHOUINARD *et al.*, 1999a, b)、ホルムアルデヒド処理したCLAを経口投与したヤギで36~41% (GULATI *et al.*, 2000)と報告されている。

乳脂肪中のCLAは、CLAの内因性合成の基質となるtrans-11C_{18:1}を第四胃に投与することによっても増加している(GRINARI *et al.*, 2000b)。また、部分的に水素添加され、ある程度trans-11C_{18:1}を含んでいる植物油、あるいは大豆油を部分的に水素添加したCa塩(trans-11C_{18:1}を17%含有)を給与しても、乳脂肪中CLA含量が2倍以上に増加した(GRINARI *et al.*, 1999)。

BELLとKENNELLY (2001)の報告では、第四胃フィステル装着泌乳牛(ホルスタイン種)4頭を供試し、①対照区(脂肪無添加, CTL)、②合成CLA(cis-9, trans-11を31.7%, trans-10, cis-12を30.4%含有)を150 g/day (CLA)、③サフラワー油を150 g/day (SAFF)、④タローを150 g/day (TALL)をそれぞれ11日間、第四胃に20から22時間かけて投与した。結果は表3に示したように、牛乳中CLAは合成CLA投与によって有意に増加し、C_{18:2}はサフラワー油投与によって増加した。乳脂肪生産量がCLA投与によって減少したために、CLA以外の全脂肪酸生産量(g/day)は減少したが、CLA生産量は増加した(表3)。合成CLA投与によって乳脂率が低下したのは、合成CLAにはcis-9, trans-11CLA以外にtrans-10, cis-12CLA異性体が含まれているためと考えられている。

濃厚飼料多給すると、図6に示したように、第一胃内細菌叢の変化によって、リノール酸代謝経路が変わり、trans-10, cis-12CLAとtrans-10C_{18:1}が生成されることが推察されている(GRINARIとBAUMAN, 1998)。乳脂肪中のtrans-10, cis-12CLA含量は低く、全脂肪酸の0.06%以下であり、cis-9, trans-11CLAの2%程度である。しかし、乳脂肪を低下させる飼料を給与した乳牛の乳脂肪中のtrans-10, cis-12CLA含量が増加し、乳脂率との間に回帰曲線があることが観察されている(BAUMAN *et al.*, 2001)(図7と8)。

泌乳中乳牛の第四胃にcis-9, trans-11とtrans-10, cis-12の混合CLAを30 g/day投与すると乳脂肪生産が50%減少したこと(Chouinard *et al.*, 1999)。BAUMGARD *et al.* (2000, 2001)は第四胃にtrans-10, cis-12CLAを投与したときには乳脂肪生産が著しく減少し、cis-9, trans-11CLA投与では影響が見られなかった。さらにtrans-10, cis-12CLAを3.5 g/day投与で乳脂肪合成を25%減少させ、低脂肪を起こすような飼養条件ではtrans-10, cis-12CLA異性体が乳腺内で

表3 泌乳牛の第四胃内へCLA投与による乳脂肪中のC₁₈-脂肪酸の組成および生産量の組成および生産量

脂肪酸	CTL	TALL	SAFF	CLA
組成 (%)				
C18:0	11.0 ^a	11.0 ^a	11.2 ^a	13.5 ^a
C18:1 <i>cis</i> -9	24.4 ^{ab}	25.6 ^a	22.8 ^b	18.2 ^c
C18:2	1.8 ^a	2.1 ^a	7.6 ^b	2.3 ^a
<i>Cis</i> -9, <i>trans</i> -11CLA	0.59 ^a	0.61 ^a	0.58 ^a	1.77 ^b
<i>Trans</i> -10, <i>cis</i> -12CLA	ND ^a	ND ^a	ND ^a	0.85 ^b
生産量 (g/day)				
C18:0	58.5 ^a	60.3 ^a	70.5 ^a	29.8 ^b
C18:1 <i>cis</i> -9	130 ^a	137 ^a	142 ^a	37.7 ^b
C18:2	9.5 ^a	10.9 ^a	46.8 ^b	4.7 ^c
<i>Cis</i> -9, <i>trans</i> -11CLA	3.08 ^a	3.31 ^a	3.59 ^a	3.90 ^a
<i>Trans</i> -10, <i>cis</i> -12CLA	0 ^a	0 ^a	0 ^a	1.86 ^b

Within a row, values with different superscripts are significantly different (p<0.05)

CTL: control (no fat infusion), TALL: 150g/day of beef tallow, SAFF: 150g/day of safflower oil, CLA: 150g/day of synthetic CLA
ND = not detected

BELL and KENNELLY (2001)

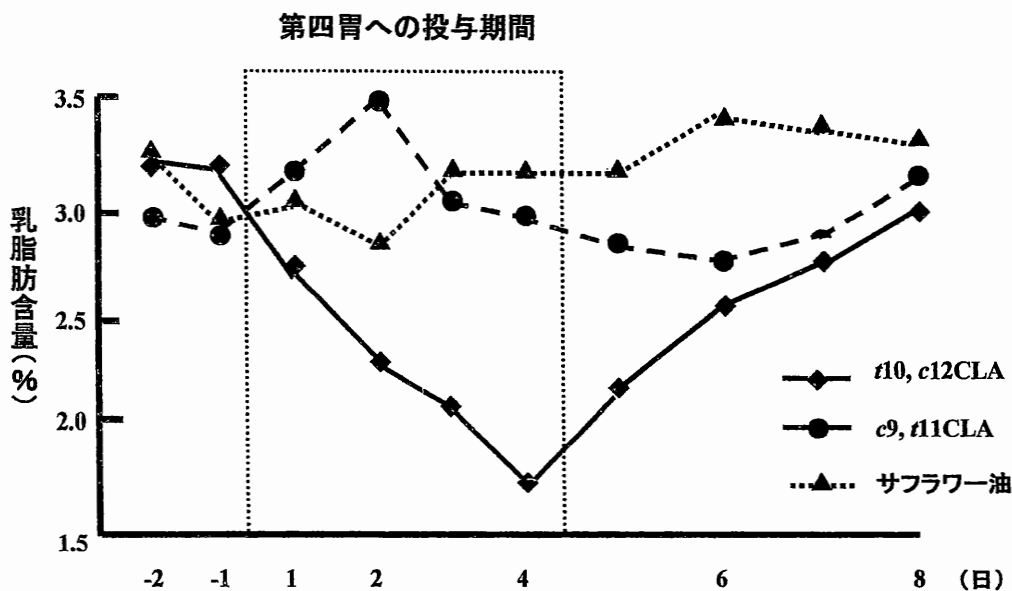


図7 CLA 第四胃投与による乳脂率への影響
BAUMGARD *et al.* (2000)

の乳脂肪合成の強力な阻害物質であるとした。このことから BAUMAN と GRINARI (2001) は乳牛に脂肪生産を低下させるような飼養条件下で飼育すると、第一胃内での多価不飽和脂肪酸の水素添加過程で乳脂肪合成を阻害する *trans*-10, *cis*-12CLA と *trans*-10C_{18:1} を生成するので、このような低脂肪症候群の原因を「biohydrogenation theory」として提唱している。

乳牛への濃厚飼料多給などによる乳脂肪生産低下は第一胃内での VFA 産生の変化、特にプロピオン酸産生の増加による glucogenic-insulin 説であり、乳脂肪合成で減少したエネルギーは体脂肪合成に利用され、体蓄積脂肪が増加する。TANAKA と OHTANI (1986) は、泌乳中ヤギを濃厚飼料多給および粗飼料多給で飼育し、乳腺と脂肪組織での脂質合成能およびリポタン

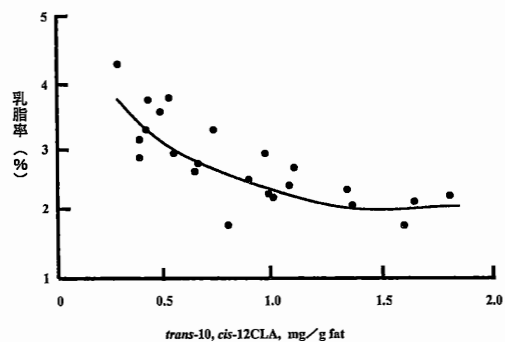


図8 乳脂率中 t10, c12CLA 含量と乳脂率の関係
GRINARI *et al.* (1999)

パク質リパーゼとホルモン感受性リパーゼ活性を測定した。乳腺では脂質合成能及びこれらのリパーゼ活性

は濃厚飼料多給期と粗飼料多給期とは差がなかったが、脂肪組織では濃厚飼料多給期において脂質合成能とリポプロテインリパーゼ（血流中のカイロミクロンや超低密度リポタンパク質から脂肪酸を脂肪組織に取り込む）活性は著しく増加し、一方、ホルモン感受性リパーゼ活性（脂肪組織から血流中へ脂肪酸を放出する）は低下したことから、濃厚飼料多給による乳脂率低下は脂質合成に必要な基質が脂肪組織の方に多く流れるために、結果として乳腺内に取り込まれる基質が減少し、乳脂率が低下するのであろうと推察している。*Trans*-10, *cis*-12CLA は乳脂肪だけでなく、体脂肪も減少させること、また、第四胃内に直接投与すると乳腺内での脂肪酸合成は抑制されるが、濃厚飼料多給などで乳脂肪合成に影響を与えるほど *trans*-10, *cis*-12CLA が第一胃内で生産され、下部消化管に流出するかは疑問である。

添加物と生産物の付加価値とで経済的なバランスがとれるなら、保護 CLA を飼料に添加することによって牛乳や牛肉中の CLA 含量を増加させることが可能である。

3) 素添加に関与している細菌を制御

飼料添加物によって第一胃内発酵を操作するのも牛乳、牛肉中の CLA 含量を増加させるのに効果的であるかもしれない。家畜の成長効果があるといわれているモネシンは *in vitro* で大豆油からの CLA 蓄積を増加させ、同時に $C_{18:1}$ の蓄積も著しく増加させており、*trans*- $C_{18:1}$ のそれ以上の水素添加を阻害している (SON *et al.*, 2000) ことから、モネシンによって B グループの細菌 (*trans*-11 $C_{18:1}$ をステアリン酸に水素添加) の増殖あるいは活性が阻害されていることが推察される。乳牛の飼料へのモネシン添加では、SAUER *et al.* (1998) の乳脂肪中 CLA が増加したとする報告、一方、CHOUINARD *et al.* (1998) および DHIMAN *et al.* (1999) はモネシンを乳牛に給与しても乳脂肪中 CLA 含量に変化が観察されなかったという報告がある。このような違いは、飼料中の基質(多価不飽和脂肪酸)量が異なっているためかも知れない。水素添加に関与している細菌数が減少しても、基質となる脂肪酸が少ないと影響が小さいのかも知れない。ヒツジを用いた泉ら(2003)の実験では、大豆油と一緒にサリノマイシン給与によって第一胃内での *trans*-11 $C_{18:1}$ レベルは増加したが、CLA 含量には影響が見られなかった。

4) 第一胃内発酵を操作

CLA の第一胃から小腸への流出量を増加させるように第一胃内発酵を操作する試みがなされている。第一胃内は高い還元的な環境であり、CLA はあくまでも還元化する過程の中間代謝物である。それで、この代謝経路を中断させる還元剤となる物質の補給を断つ、

あるいは CLA 生成に適した微生物叢にするなどが考えられている。CLA がそれ以上に代謝が進むかどうかは水素添加の程度によるので、他の電子受容体を与えると(発生する H^+ を不飽和脂肪酸への水素添加でなく、プロピオン酸産生など他に利用する)、CLA への水素添加が遅くなったり、あるいは逃れることができるかも知れない。それによって、下部消化器官に流出する CLA や *trans*-11 $C_{18:1}$ が増加するだけでなく、*Butyrivibrio fibrisolvens* や他の細菌は CLA や多価不飽和脂肪酸を菌体中に取り込む可能性がある。これは、第一胃内に電子受容体としてフマル酸を供給することによって水素がメタン生成に利用されるのを低下させ、メタン産生を減少させる (LOPEZ *et al.*, 1999) と同じ戦略である。しかし、第一胃内細菌に含まれている CLA や多価不飽和脂肪酸含量は低く、たとえば *Butyrivibrio fibrisolvens* には全 $C_{18:2}$ を 0.1%、他の細菌でも 0.7% 程度しか含有していない (HARTFOOT, 1988)。しかし、プロトゾアには $C_{18:2}$ を 16~17% 含有している (HARTFOOT 1988)。今後、プロトゾアの数を増加させることによって CLA 生成を高くすることができるかも知れない。

その他、間接的な第一胃内発酵操作の可能性として Cu 欠乏牛の牛乳中 CLA 含量が増加したとする報告がある (SOL MORALES *et al.*, 2000)。これは第一胃内での水素添加を低下させるためかもしれないということと十分な機序は明らかにされていない。

また、牛乳中の CLA 含量は個体差が大きい。その原因の 1 つは組織内での $\Delta 9$ -不飽和化酵素活性の個体差が大きいためとも考えられている。もし、飼料だけでなく、遺伝的な操作によって組織内での $\Delta 9$ -不飽和化酵素発現を促進し、活性を高くできるなら、生産物中に CLA 含量を増加させるだけでなく、飽和脂肪酸含量を減少させることが可能かも知れない。

5. CLA の生理機能

CLA はリノール酸の異性体であるが、HA ら (1987) により発ガン抑制作用が初めて報告されて以来、リノール酸とは全く異なる多様な生理作用が知られ、多くの研究がなされ、次々と新しい機能が報告されている。現在、次のような生理機能が知られている。

イ) 抗ガン作用(乳ガン、結腸ガン、皮膚ガンなど)、ロ) 抗肥満作用(体脂肪低減、体タンパク質増加、脂肪酸 β -酸化促進)、ハ) 飼料効率改善、ニ) 血中コレステロール低下(動脈硬化の予防)、ホ) 免疫調節機構の強化、ヘ) 糖尿病の改善、ト) ミネラル代謝の改善(骨粗鬆症の予防)、チ) エイコサノイド産生の制御、リ) 卵の孵化抑制などである。

そのいくつかの機能について紹介する。

1) 発ガン抑制作用

CLA の生理作用が最初に発見されたのはグリルした挽肉、ハンバーグを作るときの「こげ」の中に変異原物質ができることを研究しているうちに、このハンバーグの中に抗変異物質があることがアメリカ、ウィスコンシン大学の PARIZA (1983) によって発見され、これが CLA であること、そして発ガンを抑制することを推測して研究が行われた。IP *et al.*(1994, 1996)は、CLA 添加飼料給与ラットに化学発ガン剤である dimethylbenz anthracence (DMBA) を投与し、乳ガン発生が CLA 添加量の増加に伴って抑制され、0.1% 添加でも有意な抑制作用があることを示した (図 9)。

表 4 に CLA-enriched butter, *cis*-9, *trans*-11CLA, あるいはいくつかの CLA が混合している CLA 混合物を飼料 100 g に 0.8 g 添加した際のラットの乳ガン (腫瘍) 発生率を示した (IP *et al.*, 1999). CLA-enriched butter が 50%, *cis*-9, *trans*-11CLA が 53%, CLA 混合物が 57% といずれも効果が観察されているが、現在、発ガン抑制効果が期待できるのは *cis*-9, *trans*-11CLA であることが認められている。

発ガン抑制作用は発ガンのイニシエーション、プロモーション、プロパゲーション、メタスタシスのすべての過程で図 10 に示すような反応機構を介して、ある

いは免疫系の活性化を介して抗ガン作用を発現することが明らかにされている。

一般に、実験動物にリノール酸を多く給与すると、飽和脂肪酸を多く含有している油脂より乳ガン発生率が増加する。これは生体内でリノール酸からアラキドン酸への代謝量が多くなり、アラキドン酸から合成されるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) の過剰生産が一因と考えられている (図 11)。CLA も生体内でリノール

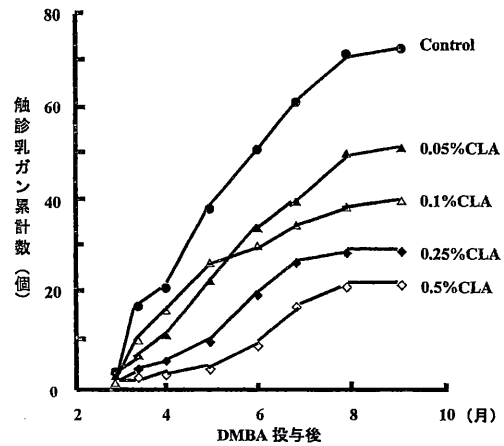


図 9 ラットにおける乳ガン発症に及ぼす CLA の影響 IP *et al.* (1995)

表 4 CLA 給与と乳ガン発生率

処理区	飼料中 CLA g/100g	腫瘍発生率	腫瘍の数
対照区	0.1	28/30 (93%)	92
CLA-enriched butter	0.8	15/30 (50%)	43
CLA supplement 1	0.8	16/30 (53%)	46
CLA supplement 2	0.8	17/30 (57%)	48

Supplement 1 : *cis*-9, *trans*-11CLA

Supplement 2 : CLA 異性体の混合物

(8-10, 9-11, 10-12, 11-13)

IP *et al.* (1999)

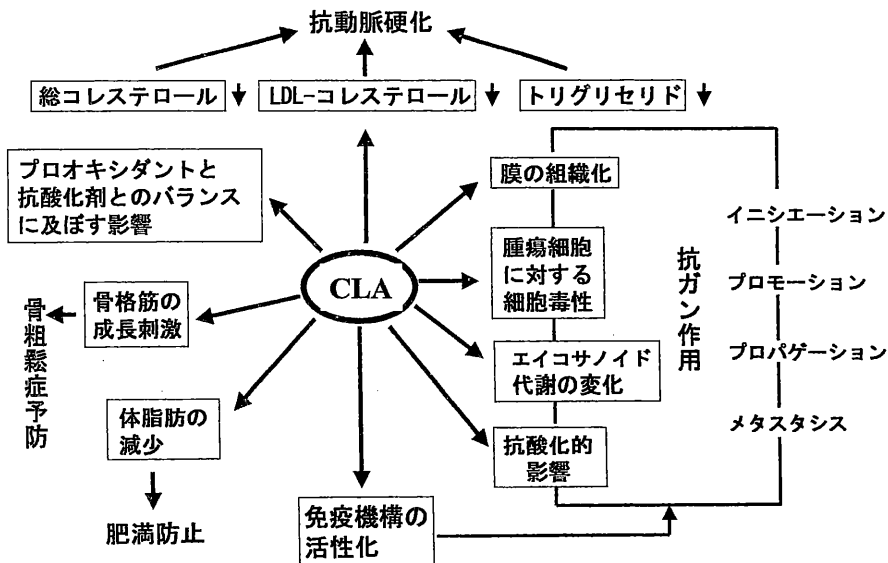


図 10 CLA の生理機能

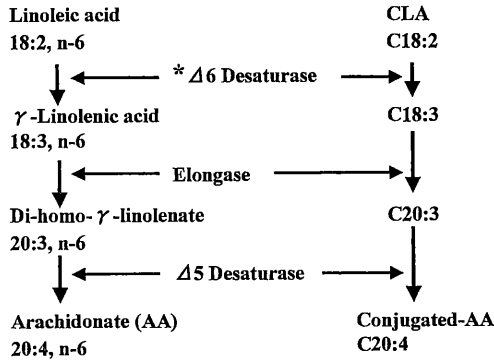


図 11 リノール酸および CLA の代謝
*Δ6 Desaturase: rate limiting enzyme

酸と同様に代謝され共役アラキドン酸異性体に代謝される。この時、代謝系で作用する酵素はリノール酸代謝と同じ酵素であるため CLA 給与によってリノール酸からアラキドン酸生成が抑制され、PGE₂ 生成も減少する。さらに図 12 に示すように、CLA は直接アラキドン酸から PGE₂ への反応に関与している酵素、COX-2 の活性を抑制することが認められている。そのため PGE₂ 生成は減少し、さらにそれから生成されるトロンボキサン（血液凝固因子）も抑制する。PGE₂ は図 12 に示したような生理作用を持っているために、PGE₂ 生成が過剰になると発ガンが促進し、逆に低レベルでは正常な免疫機能を維持し、発ガンを抑制するのである。

また、エストロゲンレセプターを持っているヒト乳ガン細胞に CLA を添加すると増殖は抑制されたが、エストロゲンレセプターを持たない細胞では抑制されなかった (DURGAM と FERNANDES, 1997)。ガン細胞増殖に関与する遺伝子である c-myc の発現は、エストロゲンレセプターを持たない細胞では CLA 添加によって低下したが、持っている細胞では抑制されなかった。この結果から、CLA の乳ガン増殖抑制作用は、エストロゲンレセプターを介したガン遺伝子発現を抑制することによって発現することが示唆されている。

2) 血中コレステロール低下作用

0.2%コレステロール添加飼料を給与して動脈硬化を起こしたウサギに CLA を 0.1, 0.5, 1.0%添加飼料を給与すると、図 13 に示すように、大動脈弓や腹部大動脈の動脈硬化程度が CLA 摂取量の増加に伴って低下した。(KRITCHEVSKY *et al.*, 2000)。図 14 はハムスターに 2%リノール酸あるいは CLA 添加した飼料を 8 週間給与し、小腸上皮の ACAT (アシル-CoA: コレステロールアシルトランスフェラーゼ) 活性と糞中に排泄されるコレステロールやコプロスタノールなどの総中性ステロイド量を測定した結果を示した (THOMAS *et al.*, 2000)。コレステロールが小腸上皮から吸収され、カイロミクロンに取り込まれるためには

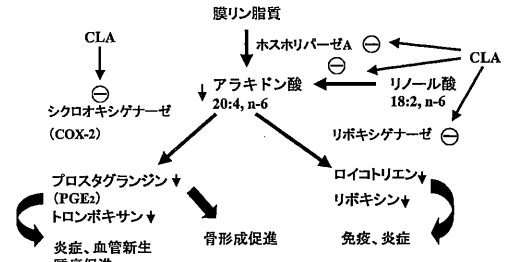


図 12 CLA とプロスタグランジン E₂ 産生 PGE₂ の作用

- 1) 低濃度で正常な免疫機能維持, 高濃度で免疫系を抑制
- 2) 局所での血管新生
- 3) 直接腫瘍細胞に作用して細胞分裂を促進
- 4) 腫瘍細胞のアポトーシスを防止

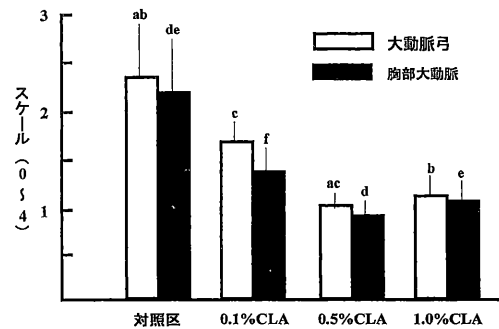


図 13 CLA の動脈硬化退縮作用 (ウサギ)
ウサギに 0.2%コレステロール給与し、動脈硬化を誘起させた後、種々のレベルで CLA 添加した飼料を 9 週間給与。平均値±SE
同じ文字は統計的有意差を示す。
大動脈弓 p<0.03, 胸部大動脈 p<0.01
D. KRITCHEVSKY *et al.* (2000)

エステル化されコレステロールエステルになる必要がある。ACAT はそのとき作用する酵素である。CLA 添加給与によって ACAT 活性は低下し、その結果コレステロール吸収が抑制され、糞中に排泄されるために糞中の総中性ステロイド量が増加したのであろう。このことが血中コレステロール濃度を低下させ、間接的に動脈硬化を予防すると思われる。しかし、すでに発生した動脈硬化を抑制するメカニズムは解っていない。しかし、ヒトでは効果がないとの報告もある。

3) 脂質代謝および肥満抑制

PARIZA *et al.* (1996) は、マウスとニワトリに 0.5% CLA 添加飼料を給与すると、体脂肪を約 50%減少したことを報告した。また、ブタやマウスの飼料効率の改善、体脂肪減少および体タンパク質の増加が観察されている (BELURY と KEMPA-STECZKO, 1997; PARK *et al.*, 1997)。CLA が体脂肪を減少させるメカニズムは図 15 のように考えられる。ヒトの場合は食欲低下作用がある。また、β-酸化を上昇させる結果、体温を上げるとの報告もあるが一時的であり、持続性があるか

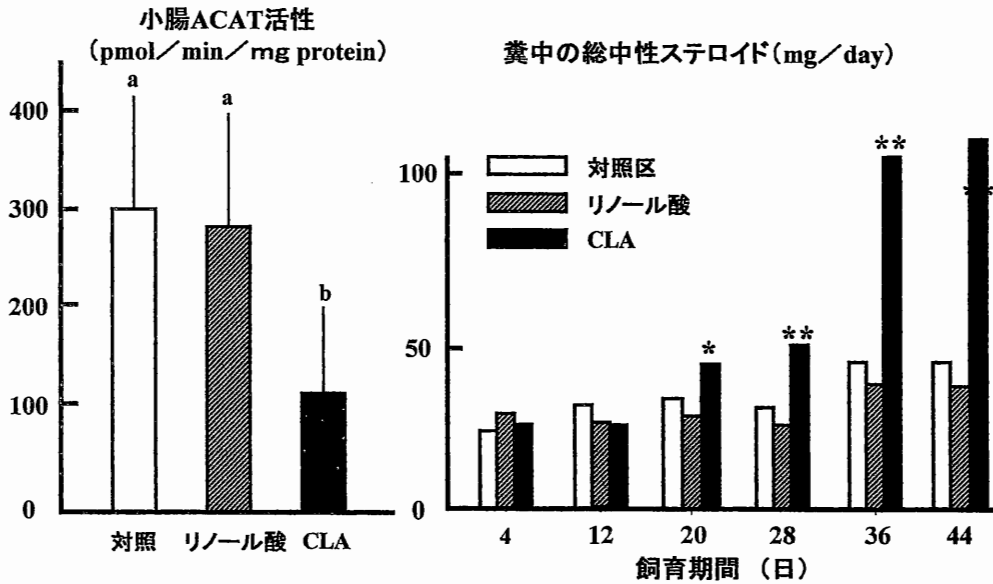
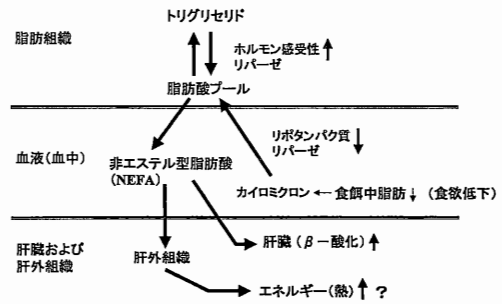


図14 CLAによるコレステロール吸収抑制
 ハムスターに2%リノール酸あるいはCLA添加飼料を8週間給与
 ハムスター 10~12匹, a, b: $p < 0.05$
 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

C.H. THOMAS et al. (2000)

どうか解らない。摂取した脂肪がカイロミクロンとして末梢組織、特に、脂肪組織に取り込まれるときに働くリポタンパク質リパーゼ活性がCLA摂取で低下するために脂肪組織に取り込まれる脂肪酸量が低下する。一方、蓄積トリグリセリドから脂肪動員させるとき作用するホルモン感受性リパーゼ活性が増加し、脂肪酸が血流中に放出され、肝臓や肝外組織に運ばれ、肝臓でのβ-酸化が増加する。筋肉などの肝外組織での脂肪酸酸化は、体全体での脂肪のエネルギー代謝量としては大きな割合を占めるが、ここでの効果は明確でない。

表5はマウスにリノール酸(対照区)あるいはCLA



を2%添加した飼料を3週間給与し、肝臓の脂肪酸の酸化系と合成系に関連している酵素活性を示した。脂

表5 マウス肝臓における脂肪酸酸化系および合成系酵素活性に及ぼすCLAの影響

酵素	対照区	CLA区
脂肪酸酸化系 (β-酸化)		
palmitoyl-CoA酸化		
ミトコンドリア	0.85 ± 0.04	1.85 ± 0.35*
ペルオキシゾーム	2.70 ± 0.21	6.27 ± 0.90*
carnitine		
palmitoyltransferase	1.89 ± 0.07	4.65 ± 0.79*
acyl-CoA oxidase	1.35 ± 0.07	2.56 ± 0.27*
脂肪酸合成系		
acetyl-CoA carboxylase	0.72 ± 0.06	1.86 ± 0.18*
fatty acid synthetase	3.66 ± 0.28	11.50 ± 1.5*
ATP-citrate lyase	0.17 ± 0.02	0.72 ± 0.10*
G-6-P dehydrogenase	1.56 ± 0.18	3.43 ± 0.65*
malic enzyme	30.50 ± 3.0	98.90 ± 17*

マウス, 平均値 ± SD (n=7~8), * $p < 0.05$
 リノール酸あるいはCLAを2%含む13%パーム油飼料を3週間給与
 T. IDE et al. (2001)

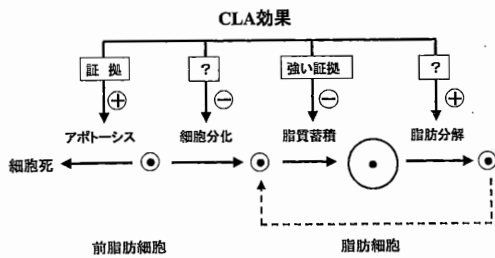


図 16 脂肪細胞に及ぼす CLA の影響 (モデル)
M.W. PARIZA *et al.* (2001)

脂肪酸酸化系の酵素活性はいずれも増加し、同時に脂肪酸合成系の酵素活性も増加している (IDE *et al.*, 2001).

CLA が脂質代謝に及ぼす影響は動物種によって異なり、マウスはレスポンスが強いが、ヒトでの効果は報告されていない。PARIZA *et al.* (2001) は脂肪細胞への CLA の影響を図 16 のようなモデルで説明している。

動物実験に使用される CLA はリノール酸あるいはリノール酸を多く含有している油脂をアルカリで異性化して調製するので、*cis*-9, *trans*-11 と *trans*-10, *cis*-12 の異性体の混合物である。しかし、この二つの異性体はそれぞれ異なった生理活性を持っている。表 6 にこの二つの異性体をマウスに給与したときの成長、飼料効率および体脂肪への影響をマウスで実験した結果を示す (COOK *et al.*, 2000)。*Cis*-9, *trans*-11CLA は、体重増加を促進するが、脂肪蓄積には効果がなく、一方、*trans*-10, *cis*-12CLA は体脂肪を減少させるが、体重増加には効果がない。

既に述べたように、泌乳牛の第四胃に *cis*-9, *trans*-11CLA を投与しても乳脂肪生産に影響を与えないが、*trans*-10, *cis*-12CLA を投与すると乳腺内での乳脂肪合成が著しく低下することから (BAUMGARD *et al.*, 2000, 2001)、反芻家畜においても *cis*-9, *trans*-11CLA は脂質合成には影響しないが、*trans*-10, *cis*-12CLA は脂質合成を阻害する効果があると思われる。

この他、骨形成促進、抗糖尿病など多くの生理作用を発揮することが報告されているが、そのメカニズムに関しては十分に明らかにされていない。今後の研究成果が大いに期待される機能性食品成分である。また、種々の CLA のうち、それぞれの CLA の有効性も今後検討する必要がある。現在、色々な CLA 異性体の中で反芻家畜由来の CLA, *cis*-9, *trans*-11CLA は発ガン抑制に、*trans*-10, *cis*-12CLA は蓄積脂肪の低減に効果があることが認められている。

6. 結 び

1996 年にアメリカ自然科学アカデミーは脂肪酸の中で *cis*-9, *trans*-11CLA だけが実験動物に対して明確にガン組織の増殖を抑制することを指摘している。ヒトに対しても悪性メラノマ(皮膚ガン)、肺腺ガン、乳ガン、大腸ガンなどに抑制効果があることを認めている。そしてヒトへの効果的な CLA 摂取日量は 3~3.5 g と推定されている。しかし、平均的なアメリカ人の CLA 摂取量は男性では約 200 mg/日、女性では約 150 mg/日と推定している (RITZENTHALER *et al.*, 2001)。

牛乳・乳製品からどの程度の CLA を摂取できるのだろうか。牛乳中 CLA 含量を放牧牛など比較的 CLA を多く含有している牛乳 (25 mg/g 乳脂肪) を 650 cc 飲むと 0.6 g、この牛乳で製造したチーズを 59 g 食べると 0.3 g、バターを 15 g 食べると 0.3 g の CLA を摂取することになり、1 日当たり 1.3 g の CLA を摂取することになる。本総説で紹介した CLA 含量の高い牛乳では 1 l 当たり CLA を 1.65 g 含有しており、もっと摂取量を増加させることができる。CLA の効果的な摂取量を畜産物によって摂取することは難しいが、毎日、習慣的に牛乳を飲んだり、乳製品を食べることによってある程度の CLA を摂取することができ、ガンや高コレステロール血症などの予防になると考えられるので乳・乳製品など反芻家畜由来の畜産物を食べることを推奨する。

表 6 *cis*-9, *trans*-11CLA と *trans*-10, *cis*-12CLA の成長、飼料効率及び体脂肪への影響の比較 (マウス)

<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (飼料中%)	<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 (飼料中%)	増体量 (3週間)	飼料効率 (3週間)	体脂肪量 (%)
0 (Control)	0	9.9	0.125	14.0
0.1	0	9.8	0.125	9.9
0.2	0	13.2 ^a	0.156	13.2
0.4	0	11.6 ^a	0.133	13.4
0	0.1	9.4	0.118	8.8 ^b
0	0.2	8.9	0.114	6.4 ^b
0	0.4	9.4	0.112	3.0 ^b

離乳後のマウス (n=6)

^a: Control区に比べて有意な差 ($p < 0.03$)

^b: Control区に比べて有意な差 ($p < 0.0001$)

M.E. COOK *et al.* (2000)

文 献

- ABUGHAZALEH, A. A., D. J. SCHINGOEHE, A. R. HIPPEN and K. F. KALSCHUR (2003) Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.*, **86**: 944-953.
- AN, J.-K., C.-W. KANG, Y. IZUMI, Y. KOBAYASHI and K. TANAKA (2003) Effects of dietary fat sources on occurrences of conjugated linoleic acid and *trans* fatty acids in rumen contents. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, **16**: 222-226.
- BAUMAN, D. E. and J. M. GRINARI (2001) Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Prod. Sci.*, **70**: 15-29.
- BAUMGARD, L. H., B. A. CORL, D. A. DWYER, A. SAEBO and D. E. BAUMAN (2000) Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Amer. J. Physiol.*, **278**: R178-R184.
- BAUMGARD, L. H., J. K. SANGSTER and D. E. BAUMAN (2001) Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.*, **131**: 1784-1769.
- BELL, J. A. and J. J. KENNELLEY (2000) Producing conjugated linoleic acid enriched milk through practical dairy nutrition. Conference abstract: 8th World Congress on Clinical Nutrition, Bangkok, Thailand. December, 17-20.
- BELL, A. and J. J. KENNELLEY (2001) Synthetic conjugated linoleic acid may cause mammary involution in dairy cows. Proc. of the Joint meet. Amer. Dairy Sci. Assoc. Anim. Sci., and Amer. Meat Sci. Assoc., Amer. Soc. Anim. Sci., and Poul. Sci. Assoc., p. 8.
- BELURY, M. A. and A. KEMPA-STECKO (1997) Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids*, **32**: 199-204.
- BOOTH, R. G., S. K. KON, W. J. DANN and T. MOORE (1935) A study of seasonal variation in butter fat. A seasonal spectroscopic variation in the fatty acid fraction. *Biochem. J.*, **29**: 133-137.
- CHOUINARD, P. Y., L. CORNEAU, D. M. BARBANO, L. E. METZGER and BAUMAN (1999a) Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.*, **129**: 1579-1584.
- CHOUINARD, P. Y., L. CORNEAU, D. E. BAUMAN, W. R. BUTLER, Y. CHILLIARD and J. K. DRACKLEY (1998) Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different sources of dietary fat. *J. Anim. Sci.*, Vol. **76** (suppl. 1) / *J. Dairy Sci.*, Vol. **81** (suppl. 1) Abstr.
- CHOUINARD, P. Y., L. CORNEAU, A. SAEBO and D. E. BAUMAN (1999b) Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **82**: 2737-2745.
- COOK, M. E., D. JEROME, M. W. PARIZA (2000) Method for selectively altering body fat level, feed efficiency, or weight gain. *US Plant* 6, 020, 378.
- DHIMAN, T. R., G. R. ANAND, L. D. SATTER and M. W. PARIZA (1999) Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.*, **82**: 2146-2156.
- DHIMAN, T. R., L. D. SALLER, M. W. PARIZA, M. P. GALLI, K. ALBRIGHT and M. X. TOLOSA (2000) Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.*, **83**: 1016-1027.
- DONOVAN, C. D., D. J. SCHINGOETHE, R. J. BAER, J. RYALI, A. R. HIPPEN and S. T. FRANKLIN (2000) Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **83**: 2620-2628.
- DURGAM, V. R. and G. FERNANDES (1997) The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on MCF-7 cells is related to estrogen response system. *Cancer Lett.*, **116**: 121-130.
- GIESY, J. G., S. VISWANADHA, T. W. FALEN, M. A. MCGUIRE, C. H. SKARIE and A. VINCI (1999) Effects of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on estimated energy balance in Holstein cows early in lactation. *J. Dairy Sci.*, **82** (Suppl. 1), 74.
- GRINARI, J. M., A. T. TESFA, M. TUORI and M. HOLMA (1999) Effect of feeding graded levels of partially hydrogenated soybean oil fatty acids to lactating dairy cows on concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat. *J. Dairy Sci.*, **82** (Suppl. 1), 84.
- GRINARI, J. M., B. A. CORL, S. H. LACY, P. Y. CHOUINARD, K. V. V. NURMELA and BAUMAN (2000) Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.*, **130**: 2285-2291.
- GRINARI, J. M., D. A. DWYER, M. A. MCGUIRE, D. E. BAUMAN, D. L. PALMQUIST and K. V. V. NURMELA (1998) *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*,

- 81: 1251-1261.
- GULATI, S. K., S. M. KITESSA, J. R. ASHES, E. FLECK, E. B. BYERS, Y. G. BYERS and T. W. SCOTT (2000) Protection of conjugated linoleic acids from ruminal hydrogenation and their incorporation into milk fat. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **86**: 139-148.
- HARFOOT, C. G. and G. P. HAZLEWOOD (1988) Lipid metabolism in the rumen. In *The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P.N. (Ed.) pp. 285-322. Elsevier Appl. Sci., London and New York.
- IP, C., S. BANNI, E. ANGIANI, G. CARTA and J. MCGINLEY (1999) Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.*, **129**: 2135-2145.
- IP, C., S.P. BRIGGS, A. D. HAEGELE, H. J. THOMPSON, J. M. STOKSON and J. A. SCMECA (1996) The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis*, **17**: 1045-1050.
- 泉 友子, 安 秉基, 小林泰男, 田中桂一 (2002) ルーメン内における共役リノール酸 (CLA) 及びバクセン酸 (*trans*-11C_{18:1}) 生成に対する青刈り草給与の影響. *ルーメン研究会報*, 13(2) : 43-46.
- JAHREIS, G., J. FRITSCHKE and H. STEINHART (1997) Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. *Nutr. Res.*, **17**: 1479-1484.
- KELLY, M. L. and D. E. BAUMAN (1996) Conjugated linoleic acid: A potent anticarcinogen found in milk fat. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.*, Page 68-74. 58th Cornell Nutrition conference, Ithaca, New York.
- KELLY, M. L., J. R. BERRY, D. A. DWYER, J. M. GRINARI, P. Y. CHOUINARD, M. E. VAN AMBURGH and D. E. BAUMAN (1998a) Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating cows. *J. Nutr.*, **128**: 881-885.
- KELLY, M. L., E. S. KOLVER, D. E. BAUMAN, M. E. VAN AMBURGH and L. D. MULLER (1998b) Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **81**: 1630-1636.
- KRITCHEVSKY, D., S. A. TEPPER, S. WRIGHT, P. TSO and S. K. CZARNECKI (2000) Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Anim. Coll. Nutr.*, **19**: 472S-477S.
- LAWLESS, F., J. J. MURPHY, D. HARRINGTON, R. DEVERY and C. STANTON (1998) Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.*, **81**: 3259-3267.
- LOPEZ, S., F. M. MCINTOSH, R. J. WALLACE and C. J. NEWBOLD (1999) Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **78**: 1-9.
- MAHFOUZ, M. M., A. J. VALICENTI and R. T. HOLMAN (1980) Desaturation of isomeric *trans*-octadecenoic acids by rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **618**: 1-12.
- PARK, Y., K. J. ALBRIGHT, W. LIN, J. M. STORKSON, M. E. COOK and M. W. PARIZA (1997) Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, **32**: 853-858.
- PARIZA, M. W., L. J. LORETZ, J. M. STORKSON and N. C. HOLLAND (1983) Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. *Cancer Res., Suppl.*, **43**: 2444s-2446s.
- PARIZA, M., Y. PARK, M. COOK, K. ALBRIGHT and W. LIU (1996) Conjugated linoleic acid (CLA) reduces body fat. *FASEB. J.*, **10**: A3227 (abs).
- PARODI, P. W. (1977) Conjugated octadecadienoic acids on milk fat. *J. Dairy Sci.*, **60**: 1550-1553.
- POLLARD, M. R., F. D. GUNSTONE, A. T. JAMES and L. J. MORRIS (1980) Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids*, **15**: 306-314.
- RITZNTHALWR, K. L., M. K. MCGUIRE, R. FALEN, T. D. SHULTA, N. DASGUPTA and M. A. MCGUIRE (2001) Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake by food duplicate methodology. *J. Nutr.*, **131**: 1548-1554.
- SAUER, F. D., V. FELLNER, R. KINSMAN, J. K. G. KRAMER, H. A. JACKSON, A. J. LEE and S. CHEN (1998) Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. *J. Anim. Sci.*, **76**: 906-914.
- SOL MORALES, M., D. L. PALMQUIST and W. P. WEISS (2000) Effects of fat source and copper on unsaturation of blood and milk triacylglycerol fatty acids in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, **83**: 2105-2111.
- SOLOMON, R., L. E. CHASE, D. BEN-GHEDALIA and D.

- E. BAUMAN (2000) The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **83**: 1140-1146.
- SONY, S., J. W. C. B. R. LEE and J. A. YOON (2000) Effect of soybean oil and monensin on *in vitro* lipid metabolism in the rumen. *Proc. Jp. Soc. Rumen Metab. Physiol.*, **11**: 44.
- TANAKA, K. and S. OHTANI (1986) Effects of diets on lipogenesis and on lipoprotein and hormone-sensitive lipases in adipose and mammary tissues of lactating goats. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **57**: 747-757.
- THOMAS, C. H. Y., L. YANG, Y. HUANG, J. WANG and Z. Y. CHEN (2000) Dietary conjugated linoleic acid mixture affects the activity of intestinal acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase in hamsters. *Br. J. Nutr.*, **84**: 935-941.
- WHITLOCK, L. A., D. J. SCHINGOETHE, A. R. HIPPEN, R. J. BAER, N. RAMASWAMY and K. M. KASPERSON (2000) Milk production and composition from cows fed fish oil, extruded soybeans or their combination. *J. Dairy Sci.*, **83** (Suppl. 1): 134.

