ヤギにおける胸管リンパ系への不飽和脂肪酸の吸収

田中桂一・清水良三・崎元道男・詹 徳 芳

岐阜大学農学部, 各務原市 504

(1973. 11. 7 受付)

要 約 第四胃フィステルを装着した山羊 2 頭を含む 5 頭の山羊に胸管リンパカニューレを装着し、1 頭にはアルファルファヘイキューブ 800 g、2 頭にはアルファルファヘイキューブ 800 g にサフラワー油 30 g を混合したものを、第四胃フィステルを装着した山羊 2 頭には、アルファルファヘイキューブ 800 g を給与した 1 時間後に、サフラワー油 30 g を 1% (W/V) Tween 80 で乳化したものをフィステルを通して第四胃内に投与した。その後経時的に胸管リンパ液を採取した。アルファルファヘイキューブだけを給与した後、24 時間を通じての胸管リンパ液の全流量と総脂質の輸送量は 2.0 l と 6.7 g であったのに対して、サフラワー油を経口的に給与した時は 3.1 l と 20.0 g、また第四胃内に投与した時は 2.7 l と 11.7 g であった。サフラワー油を経口給与あるいは第四胃内投与することによって、胸管リンパ液中のトリグリセリドとリン脂質の輸送量は増加し、両者の間には正の相関 ($r=+0.992$, $P<0.01$ および $r=+0.984$, $P<0.01$) が得られた。カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリドとリン脂質の濃度はサフラワー油を給与することによって増加し、経口的に給与した時には 19~21 時間後に、第四胃内に投与した時には 10~12 時間後に最大値に達した。さらにカイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリドとリン脂質の濃度の間には正の相関(経口的給与: $r=+0.951$, $P<0.01$ および $r=+0.860$, $P<0.05$, 第四胃内投与: $r=+0.982$, $P<0.01$ および $r=+0.861$, $P<0.05$) があった。サフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分において、 $C_{18:0}$ は 4 時間後まで減少したが、その後実験終了時まで増加した。 $C_{18:2}$ は 4 時間後に最大値を得た。サフラワー油を第四胃内に投与することによって、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分の $C_{18:2}$ は著しく増加し、 $C_{18:0}$ と $C_{18:1}$ は減少した。

さきに著者ら^{1,2)} は山羊に不飽和脂肪酸を多く含有している油脂を給与すると、第一胃内の微生物の作用によって、油脂は活発に加水分解をうけ、その時遊離された不飽和脂肪酸は水素添加をうけ、飽和脂肪酸にかえられることを *in vivo* および *in vitro* の実験で報告した。

哺乳動物では高級脂肪酸の吸収は主として小腸で行なわれ、腸管組織でトリグリセリドに合成され、カイロミクロンとして胸管リンパ系を経て血中へ輸送されることが認められている³⁾。反芻動物についての脂質の胸管リンパ系への吸収輸送に関し、HEATH と MORRIS⁴⁾、FELINSKI ら⁵⁾ はめん羊について、HARTMANN ら^{6,7)}、WADSWORTH^{8,9)} は牛について、TANAKA ら¹⁰⁾ は山羊について、胸管リンパ液を採取して実験が行なわれている。本実験は山羊の胸管リンパよりカニューレによって胸管リンパ液を経時的に採取することによって、油脂を給与した時、小腸からの脂質の吸収におよぼす影響について検討

した。また同時に第四胃内に油脂を投与した時の影響をも検討した。

実 験 方 法

1) 実験動物と飼料

山羊 (日本ザーネン種, 体重 30~35 kg) 5 頭を供試し、2 頭の山羊には第四胃フィステルを装着した。実験期間を通して舍飼し、1 日 1 頭当り 800 g のアルファルファヘイキューブを給与した。水および鉱物質混合物 (日本全薬株式会社製, 商品名: 鉱塩) は自由に採取させた。

2) 胸管リンパ液採取法および実験方法

胸管リンパにカニューレを装着することによって、胸管リンパ液を採取した。胸管リンパカニューレ装着手術は次に述べる様におこなった。供試山羊に抱水クロラル (生理食塩水の 10% 溶液) を静脈内注射することによって麻酔し、左外頸静脈にそって肩端下より約 10 cm 上

方に上皮組織を切開した。左外頸静脈を前大静脈の分岐部附近まで露出させる。胸管は左頸静脈と前大静脈の分岐部直前ないしは数 cm 以内にその流入部を見出すことができる。この附近の胸管リンパ管の直径は 1 mm 内外であるので、内径 0.8 mm のポリエチレン製のチューブを胸管に静脈流入部直前より可能な限り深く (約 10 cm) 挿入し結紮した。流出する胸管リンパ液は氷で冷したポリエチレン製ビンを首より紐で吊して採取した。動物は起立させ、枠内に保定し、リンパ液の採取をおこなった。動物の血圧および血漿中の電解質の平衡状態を維持するために胸管リンパカニューレから流出したリンパ液と同量のリンゲル液を頸静脈内に点滴注入した。

胸管リンパカニューレ装着手術 2 時間後、1 頭の山羊にはアルファルファヘイキューブ 800 g、2 頭の山羊にはアルファルファヘイキューブ 800 g にサフラワー油 30 g を混合したものを、さらに第四胃フィステルを装着した山羊 2 頭には、アルファルファヘイキューブ 800 g を給与した 1 時間後、サフラワー油 30 g を 1% (W/V) Tween 80 45 ml で乳化したものを第四胃フィステルを通し、注入ポンプを用いて 5 ml/min の速度で第四胃内に投与した。

3) サンプルの採取と分析

飼料給与後、色々な間隔で胸管リンパカニューレを通して胸管リンパ液を採取した。胸管リンパ液からのカイ

ロミクロンの分離は MINARI と ZILVERSMIT¹¹⁾ が報告している方法に基づいておこなった。胸管リンパ液、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液からの脂質の抽出および各脂質画分の定量と脂肪酸組成の分析はさきに報告したと同じ方法によって実施した¹⁾。

結果および考察

アルファルファヘイキューブとサフラワー油 (リノール酸を約 80% 含有) は前報¹⁰⁾と同じものを実験に使用した。

胸管リンパ液の流量および胸管リンパ液への総脂質の輸送量の経時的な変化を図 1 に示した。胸管リンパ液流量は、サフラワー油を給与することによって増加した。すなわちアルファルファヘイキューブだけを給与した際、給与後 24 時間の胸管リンパ液の全流量は 2.0 l であったのに対して、サフラワー油を経口的に給与した時は 3.1 l、第四胃内に投与した時は 2.7 l であった。このことは SIMMONDS¹²⁾ および SHANNON と LASCELLES¹³⁾ による、脂肪の吸収が増加すると胸管リンパ液の生成が促進されることを示した報告と一致している。

サフラワー油を経口的に、あるいは第四胃内に投与した際、胸管リンパ液への総脂質の輸送量は、アルファルファヘイキューブだけを給与した時に比べ著しく増加した。そして経口的に給与した時には 21 時間後に、第四

Fig. 1. The changes in output of total lipids and of flow in thoracic duct lymph before and at various times after the feeding of alfalfa hay cube or safflower oil

Fig. 2. The changes in output of triglycerides, phospholipids, free fatty acids and total cholesterol in thoracic duct lymph before and at various times after the feeding of alfalfa hay cube or safflower oil

胃内に投与した時には 10 時間後に最高値に達した。サフラワー油を経口的に給与した時と第四胃内に投与した時のこのような時間の差は、第一胃から第四胃へ脂質が通過するに要する時間の差であろう。アルファルファヘイキューブだけを給与した時、サフラワー油を経口的に給与した時および第四胃内に投与した時の給与後 24 時間に 胸管リンパ液へ移行した全脂質の量は、それぞれ 6.7 g, 20.0 g および 11.7 g であった。サフラワー油を経口的に給与した時に比べ、第四胃内に投与した時は、給与したサフラワー油の量は同じであったにもかかわらず胸管リンパ液に移行した脂質の量は少なかった。これは反芻動物の消化機構と関係があるものと考えられる。すなわちサフラワー油を経口的に給与した際、第一胃内で脂質は加水分解をうけ、十分に稀釈され、かつけん濁化される。そして第一胃より下部の消化器官へゆくと、しかも少しづつ送られてくるため、小腸からの脂質

の吸収が有効になされるのであろう。一方サフラワー油を第四胃内に投与した際、小腸に一度に多量の脂質が現われるため、吸収が劣るのであろう。

胸管リンパ液への個々の脂質画分の輸送量の経時的な変化を図 2 に示した。サフラワー油を給与することによって、胸管リンパ液へのトリグリセリドの輸送量は著しく増加した。そして総脂質の輸送量と同様、経口的に給与した時は 21 時間後に、第四胃内に投与した時は 10 時間後に最大値に達した。胸管リンパ液へのリン脂質の輸送量は、サフラワー油を経口的に給与した時および第四胃内に投与した時ともにトリグリセリドの輸送量と同様の傾向を示し、トリグリセリドの輸送量との間に正の相関($r = +0.992$, $P < 0.01$ および $r = +0.984$, $P < 0.01$) が得られた。遊離型脂肪酸および全コレステロールの胸管リンパ液への輸送量は、全実験を通して僅かであった、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリン

Table 1. Concentrations of individual lipid fractions in chylomicrons and chylomicron-free lymph before and at various times after the feeding of safflower oil

Time after feeding (h)	Chylomicrons			Chylomicron-free lymph*		
	Triglycerides	Phospholipids	Cholesterols	Triglycerides	Phospholipids	Cholesterols
	(mg/100 ml)			(mg/100 ml)		
Oral feeding of safflower oil						
Before feeding	40.1	7.4	2.3	179.9	75.7	31.0
1—3	41.2	6.5	2.3	151.4	75.8	32.6
4—6	117.2	13.4	3.5	203.3	99.2	27.1
8—10	151.9	13.8	6.0	252.8	91.4	26.1
13—15	217.3	17.9	9.3	306.8	106.0	25.5
19—21	283.5	22.3	8.4	350.3	112.4	23.1
26—28	147.8	9.6	4.6	202.2	71.0	24.4
Intra-abomasal infusion of safflower oil						
Before feeding	33.8	6.2	2.8	123.8	60.3	26.1
1—3	74.1	7.9	2.5	153.3	88.2	33.7
3—5	78.6	6.2	2.9	222.1	100.4	27.7
6—8	205.5	15.7	3.9	212.0	104.5	30.4
10—12	311.8	26.6	4.9	274.5	107.6	26.7
15—17	176.7	16.2	2.6	137.3	68.7	23.9
20—22	56.3	4.3	1.0	144.1	53.2	27.4

* Concentrations in chylomicron-free lymph are reducing the concentrations in chylomicron from these in total lymph.

The figures are mean values of two goats.

バ液中の個々の脂質画分の濃度の経時的な変化を表1に示した。カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリドの濃度は、サフラワー油を給与することによって著しく増加した。そしてサフラワー油を経口的に給与した時は19-21時間後に、第四胃内に投与した時は10-12時間後に最大値を得た。リン脂質はトリグリセリドと同様の傾向を示し、両処理において、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリドとリン脂質の濃度の間には正の相関（経口的給与： $r=+0.951$, $P<0.01$ および $r=+0.860$, $P<0.05$, 第四胃内投与： $r=+0.982$, $P<0.01$ および $r=+0.861$, $P<0.05$ ）が観察された。カイロミクロンにおけるトリグリセリドとリン脂質との間のこの様な相関は単胃動物においても報告されており¹⁴⁾、カイロミクロン中のリン脂質はその両極性によって、カイロミクロンの表面安定化に役立っていると考えられている^{15,16)}。また本実験において、カイロミクロン中のトリグリセリドの濃度は単胃動物^{17,18)}に比べて低く、一方カイロミクロンを分離したリンパ液中の濃度は高かった。またサフラワー油給与後、カイロミクロンのみならず、カイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド

も著しく増加した。このことは、山羊の小腸から脂質が吸収される際、小腸上皮細胞において生成されるリポ蛋白質は、カイロミクロンのほかに超低密度のリポ蛋白質も相当量あることを予想させる。

カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分とリン脂質画分のC₁₈-脂肪酸の経時的な変化を図3と4に示した。アルファルファヘイキューブだけを給与することによって、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分とリン脂質画分のC₁₈-脂肪酸は、実験を通して大きな影響はみられなかった。サフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分において、C_{18:0}は4時間後まで減少したが、その後実験終了時まで増加を続けた。一方第四胃内に投与した時、C_{18:0}は1時間で急速に減少し、その後実験終了時まで大きな変動はみられなかった。C_{18:1}は、サフラワー油を経口的に給与することによって、カイロミクロン中のトリグリセリド画分では、一時的に減少したが、その後増加し、13時間後に最大値を得た。カイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分のC_{18:1}は、サフラワ

Fig. 3. The changes in the proportions of C_{18} -fatty acids of triglycerides in chylomicrons and chylomicron-free lymph before and at various times after the feeding of alfalfa hay cube or safflower oil

ー油を経口的に給与した4時間後から増加を示し、カイロミクロン中のトリグリセリド画分と同様、13時間後に最大値を得た。サフラワー油を第四胃内に投与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分の $C_{18:1}$ は減少した。カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分の $C_{18:2}$ は、サフラワー油を給与し

た直後から増加を示し、経口的に給与した時は4時間後に、第四胃内に投与した時は6時間後に最大値に達した。第四胃内に投与した時の増加は特に著しく、カイロミクロンでは65%、カイロミクロンを分離したリンパ液では50%にも達した。サフラワー油を経口的に給与することによって、カイロミクロンとカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分の $C_{18:0}$ が増加

反芻動物における脂質の吸収

Fig. 4. The changes in the proportions of C_{18} -fatty acids of phospholipids in chylomicrons and chylomicron-free lymph before and at various times after the feeding of alfalfa hay cube or safflower oil

し、一方第四胃内にサフラワー油を投与することによって、 $C_{18:2}$ が著しく増加したことは、山羊の第一胃内において、サフラワー油に多量に含まれている $C_{18:2}$ が活発に水素添加を受けて飽和脂肪酸にかえられ、小腸壁から吸収されるためであろう。またサフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンとカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分の $C_{18:1}$ が増加したのは、第一胃内で $C_{18:2}$ の1部分が完全に水素添加を受けず、中間物質の $C_{18:1}$ の型で吸収されたためであろう。またサフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンとカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグ

リセリド画分の $C_{18:2}$ が比較的早く最大値に達しているのは、第一胃内で加水分解あるいは水素添加をされる前にすみやかに第三胃へ移行した $C_{18:2}$ が吸収されたためであろう。

カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のリン脂質画分において、 $C_{18:0}$ はサフラワー油を給与することによって減少した。そして減少の程度はサフラワー油を第四胃内に投与した時の方が大きかった。 $C_{18:1}$ は、サフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンにおいて増加の傾向にあったが、カイロミクロンを分離したリンパ液では一定の影響はみられなかつ

た。一方第四胃内に投与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のリン脂質画分の $C_{18:1}$ は減少し、そして 10 時間後に最小値を示した。 $C_{18:2}$ は、サフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンにおいて大きな変動は観察されなかったが、カイロミクロンを分離したリンパ液において増加し、8 時間後に最大値に達した。第四胃内に投与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のリン脂質画分の $C_{18:2}$ は急速に増加し、カイロミクロンでは 10 時間後、カイロミクロンを分離したリンパ液では 6 時間後に最大値を得た。サフラワー油を経口的に給与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液において、リン脂質画分に $C_{18:2}$ が比較的多く存在しており、またトリグリセリド画分より増加の程度が大きかった。このことは小腸から吸収された脂肪酸が小腸上皮細胞内でグリセリドに合成される際、リノール酸を持つ 1, 2-ジグリセリドは、3 位にリン酸基が結合して優先的にリン脂質になるという HEATH ら¹⁹⁾ の報告によって説明できるかもしれない。しかしサフラワー油を第四胃内に投与した時、カイロミクロンおよびカイロミクロンを分離したリンパ液中のトリグリセリド画分においても $C_{18:2}$ が著しく増加した。これは小腸上皮細胞で生成されるカイロミクロンや超低密度リポ蛋白質を構成している脂質画分の大部分がトリグリセリドであり、リン脂質はわずかしき占めていないので、小腸壁から吸収される $C_{18:2}$ の量が著しく多い時には、リン脂質と結合するだけでは吸収した $C_{18:2}$ を十分にカイロミクロンや超低密度リポ蛋白質に組み込むことができない。それでリン脂質と結合できなかった $C_{18:2}$ はトリグリセリド合成に利用されるのであろう。ネズミにおいても同様のことが報告されている²⁰⁾。すなわちリノール酸給与量の少ない時は、胸管リンパ液中に取り込んだリノール酸の相当量がリン脂質画分に分布していたが、リノール酸の給与量を増加させると、リン脂質画分に分布しているリノール酸は、胸管リンパ液中に取り込んだリノール酸のごく一部分であったという。しかしながらカイロミクロン中のリン脂質の一部は血液に由来し、また胆汁脂質の主要部分を占めるリン脂質の再吸収移行も考えられ、これらの関係については推察の域を脱しない。

文 献

- 1) TANAKA, K., and H. HAYASHI, Jap J Zootech Sci 42: 582-592. 1971.
- 2) 田中桂一・林 英夫, 日畜会報 43: 20-25. 1972.
- 3) WILSON, T. H., Intestinal absorption 168-175. W. B. Saunders. Philadelphia. 1962.
- 4) HEATH, T. J., and B. Q. MORRIS, Q J exp Physiol 47: 157-169. 1962.
- 5) FELINSKI, L., G. A. GARTON, A. K. LOUGH, and A. T. PHILLIPSON, Biochem J 90: 154-160. 1964.
- 6) HARTMANN, P. E., and A. K. LASCELLES, J Physiol 184: 193-202. 1966.
- 7) HARTMANN, P. E., J. G. HARRIS, and A. K. LASCELLES, Aust J biol Sci 19: 635-644. 1966.
- 8) WADSWORTH, J. C., J Dairy Sci 51: 876-881. 1968.
- 9) WADSWORTH, J. C., J Dairy Sci 51: 1382-1386. 1968.
- 10) TANAKA, K., I. NAKAJIMA, H. ITO, and H. HAYASHI, Res Bull Fac Agr Gifu Univ 33: 295-307. 1972.
- 11) MINARI, O., and D. B. ZILVERSMIT, J Lipid Res 4: 424-436. 1963.
- 12) MINARI, O., and D. B. ZILVERSMIT, J Lipid Res 4: 424-436. 1963.
- 13) SIMMOND, W. J., Aust J exp Biol med Sci 32: 285-291. 1954.
- 14) SHANNON, A. D., and A. K. LASCELLES, Aust J biol Sci 20: 669-681. 1967.
- 15) MORRIS, B., Aust J exp Biol med Sci 32: 763-782. 1954.
- 16) ZILVERSMIT, D. B., J clin Invest 44: 1610-1622. 1965.
- 17) ZILVERSMIT, D. B., J Lipid Res 9: 180-186. 1968.
- 18) ZILVERSMIT, D. B., Proc Soc exp Biol Med 128: 1116-1121. 1968.
- 19) DOLE, V. P., and J. T. HAMLIN, Physiol Rev 42: 674-701. 1962.
- 20) HEATH T. J., E. P. ADAMS, and B. MORRIS, Biochem J 92: 511-515. 1964.
- 21) MORRIS, B., and M. W. SIMPSON-MORGAN, J Physiol 169: 729-742. 1963.

The Transport of Unsaturated Fatty Acids into the Thoracic Duct Lymph of Goats

Keiichi TANAKA, Ryoza SHIMIZU, Michio SAKIMOTO and Tohuho SEN

Faculty of Agriculture, Gifu University, Kagamigahara-shi 504

The thoracic ducts of five goats, including two goats fitted with abomasal fistula, were cannulated, enabling lymph to be collected. Effect of safflower oil feeding on the transport of lipids from the small intestine to the thoracic duct were studied by determining the changes in the output of lipids in the thoracic duct lymph. The lymph flow and the output of total lipids transported *via* the thoracic duct over 24 hours were 2.0 l and 6.7 g in the alfalfa hay cube feeding, 3.1 l and 20.0 g in the oral feeding of safflower oil and 2.1 l and 11.7 g in the infusion of safflower oil into the abomasum. The output of triglycerides transported *via* the thoracic duct increased by the feeding or the infusion into the abomasum of safflower oil. The increase in the output of triglycerides was accompanied by the increase in the output of phospholipids and a significant positive correlation was observed between the outputs of triglycerides and phospholipids. The concentrations of triglycerides and phospholipids in chylomicrons and chylomicron-free lymph began to increase by the feeding or the infusion into the abomasum of safflower oil and reached a maximum value at 19-21 hours or 10-12 hours, respectively. A significant positive correlations were observed between the concentrations of triglycerides and phospholipids in chylomicrons and chylomicron-free lymph. The proportion of C_{18:0} in triglycerides in chylomicrons and chylomicron-free lymph decreased until 4 hours after the oral feeding of safflower oil, but thereafter it continued to increase with time. The proportion of C_{18:2} in triglycerides in chylomicrons and chylomicron-free lymph reached the maximum value at 4 hours after the feeding of safflower oil. With the infusion of safflower oil into the abomasum, the proportion of C_{18:2} in triglycerides in chylomicrons and chylomicron-free lymph markedly increased, whereas the proportion of C_{18:0} and C_{18:1} decreased.