動脈硬化症とチキンモデル*

—IV. トランス型脂肪酸の動脈硬化惹起作用—

戸田 隆 義** 戸田 ゆみ子*** Cho, B. H. S.****

Kummerow, F. A.**,**

I. 結 言

大部分の不飽和脂肪酸はシス型であるが、マーガリンの製造過程において多価不飽和脂肪酸に水素を添加する操作によって、多量のトランス型脂肪酸が生ずることが知られている。トランス型脂肪酸の血清脂質ならびに血管壁に及ぼす影響についての研究は少ないように思われる。われわれはトランス型脂肪酸、特にエライジン酸を多量に含むマーガリンについて検討した結果を報告する。

II. 実験方法

生後1週目のオスのヒヨコ24羽を用いた。実験群は Table 1 に示すごとく、A: 対照群, B: コレステロール投与群, C: マーガリン投与群, D: コレステロール+マーガリン投与群の計4群である。本実験に用いたマーガリンの脂肪酸組成は、14:0, 0.1%; 16:0, 10.9%; 18:0, 12.3%; 18:1 (trans), 47.5%; 18:1 (cis), 26.5%; 18:2, 2.0% であった。マーガリンを投与するに際しては、温水により温めて液状にしたのち、ヒヨコの体重100g当たり1mlの割合で経口的に投与した。コレステロールは1日量として体重100g当たり0.7gをエサに混合し投与した。7週間の実験終了後、断頭屠殺により血液を採取し酵素法により血清トリグリセライドおよびコレステロールを測定した。形態学

的検索用には、上行部大動脈と腹部大動脈を採取し、型のごとくエポンプロックを作製後、薄切しウラン、鉛の二重染色を施し、日立HU-12型電子顕微鏡にて観察した。

III. 実験結果

Figure 1 は名実験群の血清脂質値を示している。マーガリン投与群では血清コレステロールの軽度の上昇がみられた。コレステロール投与群では血清コレステロールならびにトリグリセライドが上昇していた。マーガリンとコレステロールの組み合わせ投与では、コレステロール単独投与による高脂血症をさらに増強していた。対照群：成熟チキンの大動脈の正常構造についてはすでに報告したが¹⁾、この実験では成長期を反映して少数ではあるが、核クロマチンが豊富で粗面小胞体が増加拡張した平滑筋細胞が上行部大動脈に観察された。腹部大動脈には数層の平滑筋細胞による内膜肥厚が出現し、少量の cell debris や空胞が観察された。コレステロール投与群：上行部大動脈においては中膜からの線維芽細胞様細胞と思われる細胞が増生し、軽度の内膜肥厚を生じていた。それら増生細胞には少量の小脂肪滴がみられた。腹部大動脈は対照群のそれよりも内膜肥厚, cell debris, 空胞の出現が目立ったが、有意な脂質の沈着は認められなかった。マーガリン投与群：線維芽細胞様細胞ならびに平滑筋細胞への脂肪滴の出現はあまりみられなかった。特記すべきは血管壁細胞の変性所見であった。Figs. 2, 3 胞体の部分的濃縮と分離, 空胞形成, ミトコンドリアの腫大膨化, 小胞体の拡張増加, 核のクロマチン凝集などが観察

* 1983年1月, 日本動脈硬化学会 昭和57年度冬季大会において発表

** Burnside Research Laboratory, Department of Food Science, University of Illinois

*** 長崎大学熱帯医学研究所病理部門

**** Harlan E. Moore Heart Research Foundation

された。これらの変性細胞は大動脈壁全層にみられたが、特に腹部大動脈の内膜肥厚部に著明であった。マーガリン+コレステロール投与群：全実験群の中で、この群において、血管壁への脂肪沈着が最も明らかであった。(Fig. 4) マーガリン単独投与群にみられた平滑筋細胞の変性に加え、細胞内外の脂質沈着が、上行部大動脈では線維芽細胞様細胞による内膜肥厚部に、腹部大動脈では平滑筋細胞による内膜肥厚部に著明であった。

IV. 考 案

トランス型脂肪酸の生体に及ぼす影響については、いくつかの報告がなされている。Privett ら²⁾ はトランス型脂肪酸がラットの発育障害作用を有すること、またリノール酸からアラキドン酸への変化を阻止し、必須脂肪酸の欠乏症状を悪化させることなどを報告している。血清脂質に関しては、ウサギを用いた実験でエライジン酸とコレステロールの組み合わせ投与により高脂血症と粥状硬化病変をみたとの報告³⁾ や、ブタを用いた実験でマーガリン単独で血清コレステロールが上昇し、赤血球からのコレステロールの放出速度が遅延したとの報告^{4,5)} がみられる。今回のわれわれの実験結果も上記報告を支持すると考えられた。われわ

れは形態学的にコーンオイルの単独投与により小脂肪滴の沈着を伴った平滑筋細胞を観察報告⁶⁾ したが、今回のマーガリン単独投与実験群では血清脂質の変化は軽微であるにもかかわらず、平滑筋細胞の変性が顕著であった。マーガリンの脂肪酸組成からも理解されるように、多量のトランス型脂肪酸が含まれているが、他の脂肪酸も含まれているために、以上の形態学的変化を単にトランス型脂肪酸のみで説明することはできないが、脂肪酸組成の異なるコーンオイル投与による血管壁細胞の変化とは様相が異なることは興味深い。われわれは血管壁平滑筋細胞の変性壊死機序に関して細胞膜脂質組成の変化を重視している⁷⁾。細胞膜は脂質と蛋白によるサンドイッチ状構造の中に種々の重要な機能蛋白を内包している。コレステロールは飽和脂肪酸の存在により膜の流動性を増加させるが、不飽和脂肪酸では減少すること、すなわち適量のコレステロールが細胞膜のゾルとゲルの中間状態を維持していることが知られている⁸⁾。通常細胞膜の流動性の上昇は膜透過性を反映する⁹⁾ といわれているが、トランス型脂肪酸は膜流動性を減少させる一方、膜透過性を増加すると報告されている¹⁰⁾。Hsu ら¹¹⁾ はトランス型脂肪酸のラットへの投与により心筋ミトコンドリア膜の

Fig. 1 Serum cholesterol and triglyceride levels in chicks fed either cholesterol, or margarine, or a combination of the two.

*Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

A: Vesiculation of mitochondria (arrow), a membranous structure (M) and a pyknotic nucleus (P) are noted in a fibroblast-like cell. ($\times 8,500$)

B: A smooth muscle cell (SMC) with dilated endoplasmic reticulum and swollen mitochondria are shown. ($\times 8,500$)

Fig. 2 Ascending aorta from chicks fed margarine.

A: Smooth muscle cells with vacuoles (V) and abundant rough endoplasmic reticulum (arrow) are visible in the thickened intima. ($\times 9,900$)

B: A higher magnification of a degenerated smooth muscle cell containing electron-dense materials (ED) and vacuoles (V).
BM: Basement membrane ($\times 20,100$)

Fig. 3 Abdominal aorta from chicks fed margarine.

A: Numerous vacuoles and villi are present in endothelial cells (E) of the ascending aorta. Abundant lipid vacuoles and lysosomal dense materials are contained in fibroblast-like cells (FC) which probably originated from interlamellar connective tissue cells. ($\times 4,000$)

B: Lipid containing smooth muscle cells (SMC) with basement membrane (BM) and peripheral densities (arrow) are shown.

A: Endothelial cell ($\times 10,000$)

Fig. 4 Aorta from chicks fed margarine and cholesterol.

脂肪酸構成が変化し、呼吸酵素の失活が起こると報告している。

文 献

- 1) Toda, T., Leszczynski, D. E., Nishimori, I. and Kummerow, F. A.: Arterial Lesions in Restricted-Ovulator Chickens with Endogenous Hyperlipidemia. *Avian Diseases*, **25**(1): 162-178 (1982).
- 2) Privett, O. S., Phillips, F., Shimasaki, H., Nozawa, T. and Nickell, E. C.: Studies of effects of trans fatty acids in the diet on lipid metabolism in essential fatty acid deficient rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1009-1017 (1977).
- 3) Weigensberg, B. I., McMillian, G. C. and Ritchle, A. C.: Elaidic Acid: Effect on Experimental Atherosclerosis. *Arch. Pathol.*, **72**: 358-366 (1961).
- 4) Kummerow, F. A., Mizuguchi, T., Arima, T., Chow, B. H. S. and Haung, W. Y.: The influence of three sources of dietary fats and cholesterol on lipid composition of swine serum lipids and aorta tissue. *Artery*, **4**: 360-384 (1978).
- 5) Yeh, S-J., C., Mizuguchi, T. and Kummerow, F. A.: Effects of Dietary Fat on the Release Rate of Cholesterol from Swine Erythrocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**: 236-240 (1974).
- 6) Toda, T., Honda, M., Ito, M., Iseki, M., Nishimori, I. and Niwa, M.: Experimental Arteriosclerosis Using Chicken Model. III. Effect of elastase on chick hyperlipidemia. *J. Japan Atheroscl. soc.*, **11**(2): 427-434 (1983).
- 7) Toda, T., Leszczynski, D. E. and Kummerow, F. A.: The role of 25-hydroxy-Vitamin D₃ in the induction of atherosclerosis in swine and rabbit by hypervitaminosis D. *Acta. Pathol. Jpn.*, **33** (1): 37-44 (1983).
- 8) Ladbroke, B. D., Williams, R. M. and Chapman, D.: Studies on Lecithin-Cholesterol-Water Interactions by Differential Scanning Calorimetry and X-ray Diffraction. *Biochim. Biophys. Acta.*, **150**: 333-340 (1968).
- 9) deGier, J., Manderslot, J. G. and van Deenen, L. L. M.: Lipid composition and permeability of liposomes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **150**: 666-675 (1968).
- 10) Hatten, M. E., Scandella, C. T., Horwitz, A. F. and Burger, M. M.: Similarities in the Membrane Fluidity of 3T3 and SV101-3TS Cells and its Relation to Concanavalin. A-Wheat Germ Agglutinin Induced Agglutination. *J. Biol. Chem.*, **253**: 1972-1977 (1978).
- 11) Hsu, C., M., L. and Kummerow, F. A.: Influence of Elaidate and Erucate on Heart Mitochondria. *Lipids*, **12**(6): 486-494 (1977).

Summary

Experimental Arteriosclerosis Using Chicken Model IV. Effect of Trans Fatty Acid on Chick Serum Lipid and Aorta

Takayoshi TODA*, Yumiko TODA**, B. H. Simon CHO***
and Fred A. KUMMEROW*,***

*Burnsides Research Laboratory, Department of Food Science, University of Illinois,
Illinois 61801 U.S.A.

**Department of Pathology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University,
12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki 852 Japan

***Harlan E. Moore Heart Research Foundation, 503 S. Sixth St. Champaign, Illinois 61820 U.S.A.

Trans fatty acid is produced mainly by hydrogenation of unsaturated fatty acid, a process which occurs during the production of margarine. The atherogenicity of trans fatty acid was tested using a fat in which 47.5% of the fatty acid was trans fatty acid.

Seven-day-old male chicks were fed an atherogenic regimen of either cholesterol, or trans fatty acid, or a combination of the two. Trans fat, which was liquified by hot water, was force-fed at a dose of 1 ml per 100 g of body weight. Cholesterol was mixed directly into the diet and fed at a rate of 0.7 g per 100 g of body weight. Only the cholesterol treatment caused significant changes, including

moderate hyperlipidemia and a slight increase in lipid deposition in the thoracic aorta, especially in the fibroblast-like cells. The degeneration of smooth muscle cells was remarkable in the aortas from chicks fed trans fat. An additive increase in both serum total cholesterol and triglyceride levels was noted in chicks fed both cholesterol and trans fat. Moreover, many more foam cells were observed in this group, in addition to the degenerated smooth muscle cells, especially in the thickened intimal of the abdominal aorta.

Key words: Trans fat, atherogenicity, chick artery.