高脂肪食を与えた白ネズミの血清, 肝脂質におよぼす 糖質と脂質の組合せの影響

小山 恵子*, 鈴木 敏巳*, 中村 隆*, 鴫田 克彦**

* 秋田県立脳血管研究所内科 ** 東北大学医学部第一内科

Influence of Dietary Carbohydrate-Fat Combination on the Serum and Liver Lipid in Rats Fed High Fat Diet.

Keiko Oyama*, Toshimi Suzuki*, Takashi Nakamura*
and Katsuhiko Tokita**

* Research Institute of Brain and Blood Vessels, Akita

** First Dept. of Internal Medicine, Tohoku Univ. School of Medicine, Sendai

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 25 (8), 615~620 (1972)

Wister strain male rats were fed on cholesterol and thiouracil containing high fat diet for 20 weeks to examine the influence of dietary carbohydrate-fat combination on serum and liver lipid. Serum triglyceride, total cholesterol and phospholipid concentrations were studied. Total lipid and total cholesterol in the liver also measured. The dietary carbohydrate source was sucrose or rice starch and the dietary fat was butter or soy bean oil. In total, four kinds of dietary combinations were employed.

Among the rats fed soy bean oil, higher serum triglyceride level was shown by sucrose group rather than by rice starch group. But the reverse was fact on the rats fed butter as dietary fat source.

No difference was revealed in the serum cholesterol level between sucrose and rice starch group, both fed soy bean oil as dietary fat source.

Among the rats fed butter, higher serum cholesterol level was shown by sucrose group in 5 weeks after beginning of the experiment rather than by rice starch group, while opposite result was shown after that.

Serum phospholipid was higher on the sucrose group than the rice starch group, fed either soy bean oil or butter.

Total lipid and total cholesterol contents in the liver showed no noteworthy difference between sucrose and rice starch groups. This result was obtained both from rats fed soy bean oil and butter all the same.

To study the hyperlipidemia introduced by high fat diet, source of carbohydrate might be stressed, and moreover, fat and carbohydrate combination should play a great role for it.

(Received June 20, 1972)

動脈硬化の発生および進展と食餌因子との関連については種々の研究がなされている。その中で、摂取される脂質のみならず糖質も動脈硬化と密接な関係のあることが、疫学および実験的に主張されている。なかでも果糖または蔗糖は、グルコース、でん粉にくらべて血中脂質量を高める¹⁾⁻³⁾といわれ、また Yudkin らは疫学的に心

筋硬塞と蔗糖の過食との関係を強調している⁴⁾⁻⁶⁾。

一方、1955 年から 1957 年にかけて⁷⁾⁻¹⁰⁾、食餌脂肪と血中脂質の関連についても研究がなされ、血清コレステロールは動物脂により上昇し、植物脂により低下することがいわれた。脂質の種類と動脈硬化についても、飽和脂肪と不飽和脂肪による plaque, 血栓形成、動脈硬

化発生などの差をみている¹¹⁾。

ところが蔗糖とでん粉の体内脂質代謝に及ぼす影響をみると、組み合わせられる脂質の質によってまったく違った方向をたどるという報告もある¹²⁾¹³⁾。以上のことから、食餌の影響をみる場合に組合せが大事であると考えて、著者らは糖質として米でん粉、蔗糖を使用し、これに大豆油、バターを組み合わせ、高脂肪食の際の影響を検討した。ラットに実験的動脈硬化症を作製するのは一般に困難とされている。

本実験では、高脂肪、コレステロール食にチオウラシル、コール酸を併用することにより plaque を作製できると報告している Gresham¹⁴⁾ らの方法を用いたが、高脂血症と動脈硬化症の発症が相関すると一般にいられていることから、血液および肝脂質を中心に検討した。

実験方法

1. 実験動物および飼料

ウィスター系白ネズミ雄、体重 150 g 前後のものを各群 24 匹用い、Table 1 に示す米でん粉 (以下 Table, 図中で RS と略す) または蔗糖 (S) およびバター (B) または大豆油 (SBO) の組合せによる計 4 種類の実験食で、20 週間自由食で飼育した。Gresham の動脈硬化実験では脂質を 40% にしているが、予備実験において多数死亡したので本実験では脂質を 30% に減らした。実験期間中、5, 10, 15, 20 週目で絶食 12~18 時間後、エーテル麻酔下で屠殺し実験に供した。

2. 血圧測定

血圧の測定は plethysmographic tail method¹⁵⁾ によ

Table 1. Experimental diet composition. (%)

Groups	I RS+SBO	II S+SBO	III RS+B	IV S+B
Casein	20	20	20	20
Rice starch*	37	—	37	—
Sucrose	—	37	—	37
Soy bean oil	30	30	—	—
Butter	—	—	30	30
Cholesterol	5	5	5	5
Cholic acid	2	2	2	2
Thiouracil	0.3	0.3	0.3	0.3
Salt mixture**	4	4	4	4
Vitamin mixture**	1.5	1.5	1.5	1.5
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2

to each 100 g of diet the following vitamins were added

vitamin A 200 I. U.

vitamin D 40 I. U.

α -Toc. acetate 30 mg

* made by treatment with sodium hydroxide

** Tanabe Amino Acid Research Foundation

り、夏目製作所のプレスチモ式ラット血圧計、KN 208 II 型を使用した。

3. 血清脂質の測定

血清コレステロール、中性脂肪、リン脂質は和光純薬工業株式会社、臨床検査用キットを用いて測定した。

4. 肝脂質の測定

総脂質は重量法¹⁶⁾により、またコレステロールは脂質抽出後、上述のキットを用い測定した。

5. 血清脂質脂肪酸組成の分析

脂質の抽出は Folch¹⁷⁾の方法により、メチル化は BF_3 -メタノール法¹⁸⁾によった。脂肪酸の分析は、島津ガスクロマトグラム、モデル GC-4 APF を使用し、カラム充填剤は diethylene glycol succinate 15% (shimalite 201) メッシュ 80~100 を用いた。カラムの温度は 195 °C。キャリアーガスは N_2 。流速は 60 ml/min。脂肪酸の定量は半値幅法によった。

6. 病理組織学的検索

飼育 10 および 20 週後の腎、心、肝、脳および大動脈のヘマトキシリン・エオジン染色、マツリン・エラスチカ染色を行なった。

実験結果

1. 体重および血圧

体重は実験開始直後、I 群を除き当初減少したが、2~3 週で回復した。10 週以降は、バターを与えた III、IV 群で有意に高かった。各群の実験屠殺時体重を Fig. 1 に示した。血圧は 2 週に 1 度測定したが、各群終始 100~125 mmHg で有意差はなかった。

Fig. 1. Body weights(g) of the experimental rats.

2. 血清脂質

血清中性脂肪値の飼育期間による変化を、Fig.2 に示した。Ⅲ群を除き、10, 15 週で低下し、20 週で増加している。脂質として大豆油を与えたネズミでは、米でん粉群に比し蔗糖群は高値を示し ($P<0.05$)、バターを与えたネズミでは、10, 15 週で逆に米でん粉群に比し蔗糖群が低値を示したが ($P<0.05$)、大豆油、バター群とも20 週では糖質の種類による差はなかった。脂質の差に着目してみると、米でん粉群ではバターを与えた方が有意に高く (5 週 $P<0.05$, 10, 15 週 $P<0.01$, 20 週 $P<0.20$)、蔗糖群もバターを与えた方が高い傾向にはあるが、推計学的には10 週で有意差を認めただけであった ($P<0.01$)。

血清コレステロール値の時間的推移を Fig.3 に示した。大豆油群は米でん粉を蔗糖におきかえても、血清中性脂肪値に見られたような著明な差は見られなかった。バターを与えたネズミでは、蔗糖群は米でん粉群に比し5 週目に高値を示したが ($P<0.01$)、15, 20 週ではむしろ逆に低値を示した。脂質による差は、米でん粉群では有意差はなく、蔗糖群は15 週までバター群が高く ($P<0.01$)、20 週では差はなかった。

飼育期間による血清リン脂質の推移を Fig.4 に示した。大豆油群では蔗糖を与えた方が米でん粉を与えたものより、5, 10 週で高い傾向にあったが、15 週以降はむしろ

逆であった。バターを与えた群は糖質の差による変化は著明でなかった。脂質の差についてみると米でん粉群、蔗糖群ともバターを与えた方が高かったが ($P<0.01$,

Fig. 3. Serum cholesterol.

Fig. 2. Serum triglyceride.

Fig. 4. Serum phospholipid.

$P<0.05$) 20 週では差はなかった。

3. 肝 脂 質

肝重量 (g/100 g body weight) は 15 週までは有意差はなく、各群飼育期間とともに上昇したが、20 週では大豆油群 (I : 16.1 ± 0.4 , II : 16.9 ± 2.9) が、バター群 (III : 13.1, IV : 11.9 ± 1.5) にくらべて有意に高かった ($P<0.01$, $P<0.05$)。

肝総脂質, コレステロールの値を Fig.5 に示した。両

者とも、20 週のバターを与えたネズミで、蔗糖群の方が米でん粉群よりも高値を示したが、その他糖の種類による差はなかった。食餌脂質による差を比較すると、米でん粉、蔗糖群ともに大豆油群で有意に高く、これは血清での傾向とくらべてむしろ逆であった。

4. 血清脂酸構成比

血清の脂酸構成比を Table 2 に示した。各群の飼育期間の変化をみると I, II 群ではパルミチン酸の上昇、オ

Fig. 5. Total lipid and cholesterol in liver.

Table 2. Serum fatty acid composition. (%)

Fatty acid		C ₁₄	C ₁₆	C _{16:1}	C ₁₈	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{20:3}	C _{20:4}	L/O _{ratio}
Groups										
5 weeks	I	t	16.0±0.7**	1.9±0.6	13.2±1.6	17.7±1.0	39.6±3.3	2.5±0.6	9.0±3.1	2.2±0.2
	II	0.6*	15.1	1.2	12.6	19.8	44.6	1.8	4.6	2.3
	III	1.2±0.4	22.0±2.2	3.8±1.2	11.5±3.5	23.3±3.0	33.5±6.2	0.6±0.7	4.2±1.5	1.5±0.4
	IV	3.1±1.7	28.8±2.3	10.0±2.4	11.6±1.6	34.3±2.4	9.6±1.3	t	2.7±0.9	0.3±0.1
10 weeks	I	t	17.7±1.1	2.0±0.6	17.5±1.3	16.1±1.3	35.8±1.9	0.9±0.6	10.0±1.0	2.2±0.2
	II	t	18.6±1.5	1.7±0.3	16.4±1.5	16.1±2.1	38.3±1.3	1.2±1.0	7.8±0.5	2.4±0.1
	III	1.5±0.5	28.2±1.6	5.4±0.7	13.9±0.9	34.6±0.5	12.7±2.8	t	3.7±0.7	0.4±0.1
	IV	1.6±0.1	25.6±1.2	10.2±0.6	11.6±1.1	36.2±1.5	10.3±0.5	t	4.5±0.5	0.3±0.02
15 weeks	I	0.2±0.1	19.9±1.2	2.0±0.7	15.1±1.6	15.4±1.8	36.6±1.2	0.7±0.6	10.0±2.0	2.4±0.2
	II	0.2±0.1	18.6±0.4	2.1±0.4	16.6±1.0	16.6±1.0	35.3±1.6	1.4±0.3	9.4±2.1	2.1±0.1
	III	2.2±0.2	28.0±1.6	6.7±1.2	12.5±1.1	33.8±3.1	13.3±3.0	t	3.6±0.9	0.4±0.1
	IV	1.4*	30.4	6.5	11.7	36.2	9.8	t	4.2	0.3
20 weeks	I	0.5±0.5	19.9±0.6	2.2±0.6	15.2±2.1	15.2±0.7	37.2±1.2	1.4±0.2	8.4±0.7	2.5±0.2
	II	0.3±0.3	19.5±0.6	1.8±0.3	15.5±2.1	16.7±0.3	36.0±1.0	1.3±0.3	9.1±1.1	2.2±0.04
	III	2.3*	28.2	7.7	11.5	35.8	10.2	t	4.4	0.3
	IV	2.7±1.9	31.5±3.6	8.4±0.7	11.0±1.8	35.4±2.2	7.2±0.8	t	3.8±0.9	0.2±0.01

t = trace

* mean of two rats

** standard division of mean

レイン酸の低下がみられ、Ⅲ群ではパルミチン酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸の上昇、リノール酸の低下がみられた。またⅣ群ではアラキドン酸の上昇、パルミチン酸、リノール酸の低下が見られた。糖質の差による変化は、飼育期間を通して著明ではなかった。大豆油群はバター群にくらべて、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸の減少、ステアリン酸、リノール酸、アラキドン酸の増加がみられた。一般に動脈硬化症の指標の一つとされているリノール酸とオレイン酸の比、すなわち L/O 比についてみるといずれも大豆油、バターの L/O 比、2.72, 0.19 を反映していたが、5 週のⅢ群は正常値に近く、蔗糖と米でん粉の差がみられた。その他の糖質による差はなかった。

5. 病理組織学的検索

10 週の肝臓において、線維化の程度が大豆油群で軽度であったが、その他、大動脈、臓器内血管において、著明な動脈硬化病変はみられなかった。

考 察

高脂肪食の際の糖質と脂質の組合せによる影響を、主として血清および肝脂質の面から検討した。血清脂質は、与えた脂質に着目すると、バター群は大豆油群にくらべて高い傾向にあり従来の研究と一致^{7)~10)19)}した。しかし、飼育期間が 20 週という長期になるとその差はまったく認められなかったが、これは各群とも肝機能障害が高度になるためと考えられた。

一方、糖質について蔗糖とでん粉を比較すると、血清脂質は蔗糖群で高い値を示すと一般にはいわれているが^{1)~9)}、他方グルコース、蔗糖、でん粉、水解でん粉を比較して、でん粉群が最も atherogenic であるという報告²⁰⁾もある。本実験では組み合わせられる脂質、および飼育期間によって米でん粉群と蔗糖群は逆の傾向を示すものもあり（中性脂肪でより著明）、Carroll¹²⁾¹³⁾が行なった実験結果に示されているように、炭水化物—脂質の interrelationship の複雑性を示しているものと思われる。肝脂質において、糖質による差は見られなかったが、Bailey²¹⁾らはラットにおいて hepatic lipogenesis はフラクトース群がグルコース群にくらべて大きいと述べている。これらの差は、使用した糖質や脂質の違い、量的な差、コレステロール添加の有無、飼育期間の違いなどによるものと思われる。

次に血清脂酸構成についてみると、脂質の依存度が大きく、糖質による差は飼育 5 週のⅢ群（蔗糖＋大豆油群）でみられただけであったが、五島ら²²⁾は、犬においてフラクトースとグルコースについて比較検討し、フラクトース投与犬の肝中性脂肪分画のパルミチン酸、オレイン酸の増加とリノール酸の減少を認めている。本実験でも

5 週目のバター投与群において、蔗糖群は米でん粉群にくらべて、パルミチン酸、オレイン酸の増加、リノール酸、アラキドン酸の減少を認めこれら減少した脂酸が体内で合成不可能なものであることを考えると興味深い。田中²³⁾はヒトにおいて、動脈硬化患者ではリノール酸の比率が低く、すなわちリノール酸とオレイン酸の比が 1.0 以下になるのをみているが、本実験では食餌中の大豆油とバターのそれに依存しており、比較はできなかった。

病理学的には、肝硬変の程度に差があった他は、動脈硬化の初期像といわれている著明な内膜肥厚はみられなかった。腎臓の細動脈に内膜の肥厚とみられる変化がみられたものもあったが有意差はなく、明らかな動脈硬化病変は認められなかった。高脂肪、コレステロール、チオウラシル、コール酸添加食で 20 週間飼育した本実験においても著明な変化は見られず、ラットは、食餌性コレステロールに対する耐性が強く、実験的動脈硬化症をつくりにくいという先人の報告を裏書きする結果となったが、ラットに動脈硬化症を作製できたことと報告している Gresham¹¹⁾らの方法より脂質の割合が少ないことに原因しているかもしれない。

ラットでの結果をヒトにそのままあてはめることはできないが、以上のことから、脂質代謝に対する食餌性脂質の影響を考えるときに、同時に食餌中の糖質の種類を考慮する必要がある、とくに食餌中の脂質と糖質の組合せは、複雑な問題を内蔵しているものと思われる。

要 約

動脈硬化と食餌因子との関連については多くの研究があるが、その中で糖質の影響を考える場合、たんに糖質の質のみでなくこれに組み合わせられる脂質の種類が重要であると考えて、以下の組合せにより高脂肪食の際の糖質の影響を脂質代謝の面から検討した。

体重 150 g 前後のウイスター系白ネズミ雄に、次の 4 種類の食餌を与え 20 週間飼育した。カゼイン 20、糖質 37、脂質 30、コレステロール 5、コール酸 2、チオウラシル 0.3、塩混合 4、ビタミン混合 1.5、塩化コリン 0.2、糖質と脂質の組合せは、米でん粉＋大豆油、蔗糖＋大豆油、米でん粉＋バター、蔗糖＋バターの 4 群とし、5、10、15、20 週目に屠殺、血液および肝の脂質分析と腎、心、肝、脳、大動脈の組織学的検索を行なった。

血清の中性脂肪は、大豆油群では米でん粉を与えたものより蔗糖を与えた方が高く、バター群では逆だった。

血清コレステロールは、大豆油群では米でん粉、蔗糖の間に著明な差はなく、バター群では 5 週目に蔗糖群が米でん粉群より高かったが長期飼育では逆であった。

血清リン脂質は、大豆油、バター群とも初期には米でん粉群より蔗糖群で高かったが長期では差はなかった。

肝総脂質，コレステロールは，糖質による著明な差はなく，バター群で低く，血清での傾向と必ずしも一致しなかった。

終りに，この研究にご助言いただきました古徳利光博士，病理組織学的検索にご指導，ご助力いただきました深沢仁博士，白沢 満氏，動物飼育にご協力いただきました佐藤了悦氏に感謝します。

本研究の要旨は，昭和46年11月，第13回日本老年医学会総会で報告した。

文 献

- 1) Joseph, T. A. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **20**, 168 (1967)
- 2) *Nutr. Rev.* : **23**, 183 (1965)
- 3) *ibid.* : **23**, 292 (1965)
- 4) Yudkin, J. : *Lancet*, **2**, 4 (1964)
- 5) Yudkin, J. : *ibid.*, **2**, 6 (1964)
- 6) Yudkin, J. *et al.* : *Am. J. Clin. Nutr.*, **20**, 503 (1967)
- 7) Ahrens, E. H. *et al.* : *Lancet*, **1**, 943 (1957)
- 8) Ahrens, E. H. *et al.* : *J. Clin. Invest.*, **34**, 918 (1955)
- 9) Kinsell, L. W. *et al.* : *Am. J. Clin. Nutr.*, **3**, 247 (1955)
- 10) Beveridge, J. M. R. *et al.* : *Canad. J. Biochem.*, **34**, 441 (1956)
- 11) Gresham, G. A. *et al.* : *Brit. J. Exp. Path.*, **42**, 166 (1961)
- 12) Carroll, C. : *J. Nutr.*, **79**, 93 (1963)
- 13) Carroll, C. : *ibid.*, **82**, 163 (1964)
- 14) 二国二郎：澱粉の化学，p. 512, (1951) 朝倉書店
- 15) 曾我部博丈：実験高血圧症入門，p. 199 (1968), 英光堂書店
- 16) Folch, J. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- 17) Folch, J. : *ibid.*, **191**, 833 (1951)
- 18) Metcarfe, L. D. : *Anal. Chem.*, **39**, 514 (1966)
- 19) Yamamoto, I. *et al.* : *Atheroscler.*, **13**, 171 (1971)
- 20) Kritchevsky, D. *et al.* : *J. Atheroscler. Res.*, **8**, 697 (1968)
- 21) Balley, E. *et al.* : *Nature*, **217**, 471 (1968)
- 22) 五島雄一郎ら：日老医誌，**3**, 295 (1966)
- 23) 田中 圭：日内誌，**50**, 790 (1967)

(昭和47年6月20日受理)