ムについてご助言賜った山陽国策パルプ計数部、芳賀敏郎氏、ならびに香川大学計算センターの諸氏、官能検査にあたり協力願った徳島文理大学田主澄三氏、無機成分の測定をしていただいた専攻生富永妙子氏、終始ご指導くださった大阪府立大学北岡正三郎教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 松井年行, 山田勝治: 栄養と食糧, 28, 371 (1975)

- 2) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 鈴木隆雄: 食品分析ハンドブック, 431 (1969), 建帛社 (東京)
- 3) 伊藤 汎: 精糖技研誌, 25, 10 (1975)
- 4) 日科技連官能検査委員会: 新版 官能検査ハンドブック, 349 (1962), 日科技連出版社 (東京)
- 5) 河合 章, 松本 博, 国則登代: 水分, 無機物の分析と物性測定, 9 (1971), 講談社 (東京)
- 6) 精糖技術研究会編: 製糖便覧, 4 (1962), 朝倉書店 (東京)
- 7) 山根敏雄: 甘蔗糖製造法, 73 (1966), 光琳書院 (東京)

(昭和51年11月4日受理)

ニワトリ十二指腸粘膜の脂質組成の 孵化にともなう変化

森内幸子*, 吉沢節子*, 細谷憲*政*
高瀬幸子**, 大谷 愛**

* 東京大学医学部保健学科保健栄養

** 静岡女子大学家政学部食物学科

Developmental Changes of Lipid Composition in Chick Duodenal Mucosa

Sachiko MORIUCHI,* Setsuko YOSHIZAWA,*
Norimasa HOSOYA,* Sachiko TAKASE,**
Megumi OTANI**

* Department of Nutrition, School of Health
Sciences, Faculty of Medicine, University of
Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo

** Food and Nutrition Laboratory, Faculty of
Living Sciences, Shizuoka Women's College,
Yada, Shizuoka

The developmental changes of lipid composition was observed in chick duodenal mucosa. As a result, the content of cholesterol and triglycerides did not show any significant change during development, but that of phospholipids and total fatty acids showed a significant increase after hatching. Furthermore, there was marked changes in the fatty acid composition of duodenal mucosa, namely, a decrease in 16:0 and 18:1, and an increase in long chain polyunsaturated fatty acids. (Received November 10, 1976)

小腸粘膜刷子縁には二糖類水解酵素, ジペプチダーゼ, アルカリ性ホスハターゼなどの酵素が局在することがよく知られている^{1)~3)}。これらの酵素活性は, 個体の発達とともに著しい変化を示す。哺乳動物では離乳期⁴⁾⁵⁾に,

ニワトリでは孵化期を境にして^{6)~8)}, 酵素活性の著明な増大が観察される。

これらの酵素誘導の機構については, 副腎皮質ホルモンなどが関与すると考えられているが, 最近, 吉沢らはニワトリ胚小腸器官培養系を用いて, ビタミン D₃ の代謝活性物質である, 1, 25-ジヒドロキシビタミン D₃ がアルカリ性ホスハターゼ誘導に関与していることを報告している⁹⁾¹⁰⁾。また, 二糖類水解酵素の誘導には, 副腎皮質ホルモンとともに, 蔗糖が重要な因子であることも観察している¹¹⁾。一方, 小腸粘膜刷子縁のたん白質組成の変化, とくに, 二糖類水解酵素などの酵素のたん白質の増加が孵化後に観察されている¹²⁾。膜に結合した酵素の活性が, 膜脂質, とくに, その脂肪酸組成により影響を受けることも知られている¹³⁾ので, ニワトリ十二指腸粘膜の発達過程において, 酵素活性の変化の著明な孵化直前の20日胚と, 孵化後1日ならびに2日目の十二指腸粘膜における脂質組成の変化を観察してみた。

実験方法

白色レグホン種の受精卵を上総養鶏場より購入し, 孵卵器に 37.5°C, 相対湿度60%で孵卵した。孵卵20日胚ならびに孵化後1, ならびに2日目の十二指腸粘膜を採取し, 脂質の抽出に用いた。孵化後は水のみを与えた。各群それぞれ10, 5, ならびに, 3羽の十二指腸粘膜をプールして, 脂質の分析に用いた。データは3回の実験結果から得られたものである。

十二指腸粘膜の脂質の抽出は Folch ら¹⁴⁾ の方法に従って行なわれた。抽出にあたり, あらかじめ抗酸化剤として, ハイドロキノン (半井化学薬品株) を組織 1g 当たり 10 mg と, 脂肪酸組成のガスクロマトグラフィーによる分析のために内部標準として, 組織 1g 当たり 5 mg のアラキジン酸 (Applied Science Lab., Inc.) とを加えた。各粗脂質抽出液は0.2容の0.2% HCl で洗った後, ロータリーパキュウム N-1 型 (東京理化学器械株) で蒸発乾固した後, 10 ml のクロロホルムに溶解

* 〒113 東京都文京区本郷7-3-1

** 〒420 静岡市谷田 409

した。5 ml はケイ酸 (100~200 メッシュ 5 g, Malinckrodt Chemicals) カラムクロマトグラフィーで中性脂質とリン脂質画分に分離¹⁵⁾, トリグリセリド, コレステロールならびにリン脂質量の測定に用いた。トリグリセリドの測定は Van Handel らの方法によって行なった¹⁶⁾。コレステロールは中性脂質画分をけん化後, ジギトナイドとして Zak らの方法に従って測定した¹⁷⁾。リン脂質画分のリンを Bartlett¹⁸⁾ の方法で測定し, リン量を25倍した値をリン脂質量とした。脂肪酸組成の測定は, 粗脂肪抽出液 1 ml を有栓試験管にとり, N₂ 気流下に蒸発乾固させたのち, 2 ml の 2% H₂SO₄ を含むメタノールで気相を N₂ ガスで置換した状態で 60°C に一晩反応させた。脂肪酸のメチルエステルは石油エーテル (bp 38~40°) で抽出して, 島津 GC-6A を用いて分析した。ガスクロマトグラフィーの条件は, 10% EGSS-X をコートした gaschrom P カラムを用い, カラム温度

は 180°C であった。各ピークの同定は, Hofstetter らの方法で行なった¹⁹⁾。

実験結果および考察

二糖類水解酵素などの活性の低い時期, 20日胚, 酵素活性の増大する過程の孵化後 1 日目ならびに酵素活性の最大となる時期, 2 日目の十二指腸粘膜の脂質組成を測定して, 比較検討してみた (Table 1)。

脂質の中で, リン脂質ならびにコレステロールが大部分をしめ, トリグリセリドはわずかしが含まれていなかった。コレステロール, トリグリセリドは孵化の前後で有意な変化は観察されなかったが, リン脂質量は孵化後有意な増大を示した。総脂肪酸量の孵化後の増大は, リン脂質量の変化を反映しているものと思われる。コレステロールとリン脂質のモル比をリン脂質の平均分子量を 780 として²⁰⁾ 計算してみると, 20日胚においては1.16で

Table 1. Developmental changes in lipid compositions of chick duodenal mucosa.

	20 day embryo (a)	1 day chick (b)	2 day chick (c)	
Phospholipid (mg/g tissue)	7.15±0.18	8.48±0.22	9.76±0.44	a)-b) ** ^(d) a)-c) *** b)-c) *
Cholesterol (mg/g tissue)	4.13±0.21	4.24±0.06	4.07±0.02	
Triglyceride (mg/g tissue)	1.47±0.27	1.47±0.03	1.24±0.07	
Total fatty acid (mg/g tissue)	10.60±0.01	14.90±0.01	15.40±0.01	a)-b) **** a)-c) **** b)-c) ****
Fatty acid composition (%)				
12:0	0.13±0.09	0.31±0.01	0.20±0.02	b)-c) **
14:0	1.20±0.06	1.17±0.34	0.40±0.10	a)-c) ***
14:1	1.50±0.03	2.43±0.47	0.90±0.17	b)-c) *
16:0	24.70±0.26	21.40±0.81	19.03±0.65	a)-b) ** ^(c) ***
16:1	0.27±0.03	0.27±0.03	0.27±0.03	
16:2	2.30±0.46	4.27±0.19	0.67±0.14	a)-b) *** ^{a)} a)-c) *** b)-c) ****
18:0	23.20±0.30	20.43±0.90	23.30±0.20	a)-b) * ^{b)} b)-c) *
18:1 (ω9)	18.30±0.76	17.80±1.20	14.00±0.51	a)-c) *** ^{b)} b)-c) *
18:2 (ω6)	11.70±0.72	12.20±0.50	15.80±0.10	a)-c) **
20:4 (ω6)	10.60±0.77	11.73±0.72	16.00±1.13	a)-c) ** ^{b)} b)-c) *
20:4 (ω3)	1.20±0.23	2.63±0.42	2.93±0.28	a)-b) * ^{a)} a)-c) ***
20:5 (ω3)	2.30±0.30	1.13±0.27	1.20±0.06	a)-b) * ^{a)} a)-c) *
22:5 (ω6)	0.20±0.01	0.30±0.02	0.63±0.03	a)-b) *** ^{a)} a)-c) **** b)-c) ****
22:5 (ω3)	0.20±0.02	0.10±0.01	0.14±0.05	a)-b) **
22:6 (ω3)	4.10±0.30	3.83±0.01	4.67±0.22	

Values are the means ±S.E. of 3 determinations.

^{d)} t-test analysis: **p*<0.05, ***p*<0.02, ****p*<0.01, *****p*<0.001.

あったが、孵化後1日目においては1.01、2日目では0.85と低下の傾向を示した。脂肪酸組成についてみると、20日胚では、16:0、18:0などの飽和脂肪酸や18:1の不飽和脂肪酸が多いが、孵化後1日目においては、16:0、18:0などの飽和脂肪酸がわずかに減少し、16:2、20:4(ω 3)などの不飽和脂肪酸の増加が観察された。さらに2日目になると、14:1、16:2、18:1などの不飽和脂肪酸が減少し、一方、18:2、20:4、20:4(ω 3)などの長鎖不飽和脂肪酸の増加が観察された。

Martonosi らはニワトリ筋小胞体の脂質組成の発達にともなう変化を観察しているが、カルシウム輸送の活性化、Ca-ATPase 活性の増大に平行して、18:2、20:4などの脂肪酸が増え、飽和脂肪酸が減少し、膜の流動性(fluidity)の変化が膜に結合した酵素の活性化、さらには、膜輸送の活性化に関連しているのではないかと報告している²¹⁾。また、膜のコレステロールとリン脂質の比の低下は膜の透過性、ひいては、物質輸送の活性を増大するものと考えられている^{22)~24)}。ここで示した結果は、十二指腸粘膜全体の脂質の変化を観察したもので、十二指腸粘膜刷子縁そのものについて得られたものではないから、結論を急ぐことはできないが、トリグリセリドが少なく、脂質のほとんどがリン脂質とコレステロールであることから、十二指腸粘膜の膜の性質をある程度は反映していると考えられる。現在、孵化期前のニワトリ十二指腸粘膜刷子縁の脂質の変化についても検討中であるが、十二指腸粘膜の脂質の分析結果から、十二指腸粘膜刷子縁に局在する酵素の発達にともなう誘導過程にも、膜脂質の変化が一つの因子として作用しているのではないかと推察される。

要 約

ニワトリの発達過程における、十二指腸粘膜の脂質組成の変化を観察してみた。

その結果、コレステロール、トリグリセリドには孵化前後で有意な変化は観察されなかったが、リン脂質ならびに総脂肪酸量は、孵化後有意な増大をしめした。さらに脂肪酸組成は、孵化の前後で著明な変化を示した。孵化後、16:0、18:1などが減少し、長鎖多不飽和脂肪酸の増加の傾向が観察された。

本研究は文部省科学研究費(944021)の援助によって行なわれた。

文 献

- 1) Miller, D. and Crane, R.K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **52**, 293 (1961)
- 2) 小田琢三, 関 周二: *J. Electron Microscopy*, **14**, 210 (1965)
- 3) Forstner, G.G., Sabesin, S.M. and Isselbacher, K.J.: *Biochem. J.*, **106**, 381, (1968)
- 4) 武藤泰敏, 木場春海, 細谷憲政: 栄養と食糧, **25**, 519 (1972)
- 5) Moog, F., Denes, A.E. and Porvell, P.M.: *Develop. Biol.*, **35**, 143 (1973)
- 6) Siddons, R.C.: *Biochem. J.*, **112**, 51 (1969)
- 7) Strittmatter, C.F.: *Biochim. Biophys. Acta*, **284**, 183 (1972)
- 8) 牧田登之, 香川和三, 原 行雄, 木脇祐順: 山口大学農学部学術報告, No 25, 1029 (1974)
- 9) Yoshizawa, S., Moriuchi, S. and Hosoya, N.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 21 (1976)
- 10) Yoshizawa, S. and Moriuchi, S.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 263 (1976)
- 11) Yoshizawa, S., Moriuchi, S. and Hosoya, N.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 227 (1977)
- 12) Moriuchi, S., Yoshizawa, S. and Hosoya, N.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 405 (1976)
- 13) Farias, R.N., Bloj, B., Moor, R.D., Siñeriz, F. and Trucco, P.E.: *Biochim. Biophys. Acta*, **415**, 231 (1975)
- 14) Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- 15) Borgström, B.: *Acta Physiol. Scand.*, **25**, 111 (1952a)
- 16) Van Handel, E. and Zilvermit, D.B.: *J. Lab. Clin. Med.*, **50**, 152 (1957)
- 17) Zak, B., Dickenman, R.C., White, E.G., Burnett, H. and Cherney, P.J.: *Am. J. Clin. Path.*, **24**, 1307 (1954)
- 18) Bartlett, G.R.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 466 (1959)
- 19) Hofstetter, H.H., Sen, H. and Holman, R.T.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **42**, 537 (1965)
- 20) Goodman, D. B. P., Haussler, M. R. and Rasmussen, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 80 (1972)
- 21) Martonosi, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **415**, 311 (1975)
- 22) Demel, R.A., Kinsky, S.C., Kinsky, C.B. and Van Deenen, L.L.M.: *Biochim. Biophys. Acta*, **150**, 655 (1968)
- 23) De Gier, J., Mandessloot, J.G. and Van Deenen, L.L.M.: *Biochim. Biophys. Acta*, **150**, 666 (1968)
- 24) Finkelstein, A. and Cass, C.A.: *Nature*, **216**, 717 (1967)

(昭和51年11月10日受理)