報 文

高脂肪食投与時の肝脂質代謝について

—カルニチンまたはパンテチンの添加効果—

水 沼 俊 美*, 高 橋 因*, 佐 藤 文 代**
岸 野 泰 雄*, 奥 田 拓 道***

* 徳島大学医学部実践栄養学教室 ** 十文字学園女子短期大学食物科

*** 愛媛大学医学部第2医化学教室

Effect of Carnitine and Pantetheine on Lipid Metabolism in Liver of Rats Fed High Fat Diet

Toshimi MIZUNUMA,* Yukari TAKAHASHI,* Fumiyo SATO,**
Yasuo KISHINO,* Hiromichi OKUDA***

* *Department of Nutrition, School of Medicine, Tokushima University,
Kuramoto-cho, Tokushima*

** *Laboratory of Nutritional Education, Division of Food and Nutrition,
Jumongi Gakuen College, Niiza, Saitama*

*** *2nd Department of Medical Biochemistry, School of Medicine,
Ehime University, Shigenobu-cho, Ehime*

Total lipid and lipoperoxide level in the liver was elevated significantly when the rats were fed for 10 weeks on high fat diet containing 40% corn oil. After the feeding, serum glutamic pyruvic transaminase (S-GPT) was also significantly elevated, suggesting some damage in the liver.

To know some of the nature of this liver damage, carnitines (D- and L-) and pantetheine were supplemented to this high fat diet. Although carnitine supplementation depressed significantly the rise in lipoperoxide level during the experimental period, it did not depress the rise in total lipid for more than 7 weeks. Pantetheine supplementation also reduced the rise in lipoperoxide after 10 weeks of the feeding, but could not reduced the rise in total lipid level at all. No S-GPT elevation was seen at the end of 10 weeks supplementation experiments.

It was concluded that elevation in lipoperoxide level in the liver had more intimate relation than the rise in total lipid to the liver damage indicated by the elevation of S-GPT induced by high fat diet feeding.

(Received March 18, 1978)

われわれは先に、ラットを 40% コーンオイルをふくむ高脂肪食で飼育すると、3 週時において、トリグリセリド性の脂肪肝の発現を認め、しかも蓄積する脂肪滴が巨大であることを報告し¹⁾、さらに 10 週間の長期投与においては、血清 glutamic pyruvic transaminase (S-GPT) 活性の上昇を認め、軽度の肝障害を観察し同

時に過酸化脂質の上昇をとまなうことを報告した²⁾。

高脂肪食の長期投与により発現する軽度の肝障害に、脂肪の蓄積や過酸化脂質の上昇がどのように関与しているのかは興味ある問題である。

われわれは今回、実験の過程で、40% コーンオイルをふくむ高脂肪食にカルニチンを添加すると、3 週間飼育時に肝総脂質、過酸化脂質が低下することを観察した。カルニチンの作用には、長鎖脂肪酸の酸化促進作用が考えられる。そこでカルニチンを 10 週まで投与したとき

* 〒770 徳島市蔵本町 3-18-15

** 〒352 新座市菅沢 2-1-28

*** 〒791-02 愛媛県温泉郡重信町大字志津川

Table 1. Influence of carnitine supplementation on liver lipid,

Dietary supplementation		Total lipid (mg/g tissue)		
		3wk	7wk	10wk
High fat	Not supplemented	57.5±4.6	76.6±2.3	71.8±5.0
	D-Carnitine	38.3±0.7*	58.3±3.8*	76.4±6.7
	L-Carnitine	41.7±2.8*	51.2±3.2*	82.1±10.4

Rats were fed for 3, 7 and 10 weeks. * $p < 0.05$.

Table 2. Influence of pantetheine supplementation on liver lipid,

Dietary supplementation		Total lipid (mg/g tissue)		
		3wk	7wk	10wk
High fat	Not supplemented	57.5±4.6	76.6±2.3	71.8±5.0
	Pantetheine	71.6±2.6*	96.2±7.7*	72.2±6.3

Rats were fed for 3, 7 and 10 weeks. Values are means±standard errors of 10 rats each. * $p < 0.05$.

の肝総脂質、過酸化脂質そして S-GPT の変動について調べた。また一方、脂肪酸が β -酸化経路にはいるときには、まず acyl-CoA 型に活性化されなければならない。そこで CoA の前駆体であるパンテチンの添加効果についても観察したので合わせて報告する。

実験方法

1. 実験動物および飼料

実験にはウイスター系雄白ネズミ（初体重約 80 g）を用いた。高脂肪食としては、カゼイン 36%，コーンスターチ 19%，コーンオイル 40%，塩混合 4%，ビタミン混合（オリエンタル酵母株式会社製，ハーバー配合）1%，塩化コリン（コリンクロライド 0.5 g/ml 50% エタノール溶液）0.2% とし、飼料 100 g あたり、ビタミン A 3,000 IU，ビタミン D 3,000 IU を添加したものを使用した。

以上の高脂肪食にカルニチン（D 型または L 型）またはパンテチンを飼料 100 g あたりそれぞれ 670 mg 添加した。飼料および水は自由に与えた。ラットは実験に供する前 15 時間の絶食とした。

2. 肝脂質の分析

肝総脂質は Folch³⁾ の方法により抽出定量した。

3. S-GPT [EC. 2.6.1.2] 活性測定

Kabi 社製血清トランスアミナーゼ用キットを使用して測定した。

4. 過酸化脂質の測定

Yagi⁴⁾ 法により測定した。

実験結果

40% コーンオイルをふくむ高脂肪食に、D 型または L 型カルニチンを添加した食餌を 3 週間投与したとき、肝総脂質と過酸化脂質は Table 1 に示すとおり、カルニチンの添加により、D 型、L 型ともに肝総脂質を有意に低下させ、過酸化脂質も約 1/2 に低下させた。

ラットの成長は、カルニチンを添加した群と添加しない群との間に差を認めない。1 日あたりの飼料摂取量は、D 型または L 型カルニチンを添加した群でそれぞれ、11.6±0.5 g，13.2±0.3 g であり、カルニチンを添加しない群の 14.4±0.4 g と差を認めない。また肝重量も 3 群間で差が認められなかった。

カルニチン添加食を 3 週間投与したとき、肝総脂質および過酸化脂質の有意な低下を観察したので、さらに投与を 7, 10 週までつづけた。

その結果は、Table 1 に示されるように、肝総脂質に対しカルニチンは 7 週まで低下効果をもっている。しかし、10 週においては低下効果を示さない。

肝過酸化脂質の経時的変化については、カルニチンを添加した群は、添加しない群にくらべ、過酸化脂質レベルが 3, 7 週において約 1/2, 10 週においては約 1/3 に有意に低下する。したがってカルニチンは 10 週まで

lipoperoxide and serum GPT in the rats fed on high fat diet.

er]			[Serum]		
Lipoperoxide (nmoles/g tissue)			GPT (Karmen Units/ml)		
3wk	7wk	10wk	3wk	7wk	10wk
367±62	478±30	1412±37	26±2	37±8	90±16
185±9*	202±34*	560±33*	31±4	55±11	43±6*
179±19*	119±23*	432±27*	34±7	43±7	30±1*

lipoperoxide and serum GPT in the rats fed on high fat diet.

er]			[Serum]		
Lipoperoxide (nmoles/g tissue)			GPT (Karmen Units/ml)		
3wk	7wk	10wk	3wk	7wk	10wk
367±62	478±30	1412±37	26±2	37±8	90±16
307±20	660±45	179±18*	30±3	32±7	58±8*

過酸化脂質に対し低下効果を示す。S-GPT の動態は、高脂肪食 10 週投与において、S-GPT 活性が 90 Karmen Units/ml と高値を示すのに対し、カルニチン添加群は、その 1/2~1/3 に低下している。

Table 2 は、パンテチンの肝総脂質におよぼす影響を示したものである。パンテチン添加群は、3, 7 週時において肝総脂質をむしろ上昇させている。したがって、パンテチンは、すくなくとも 10 週まで、肝総脂質に対して低下効果をもたないことを示す成績である。

肝過酸化脂質については、パンテチンの添加により 10 週時において、約 1/8 の低値を示した。

S-GPT の動態は、10 週時において、パンテチンの添加により、添加しない群の約 2/3 の値を示し、有意に低下した。

したがって、以上の成績は、パンテチンが肝総脂質に対して低下効果をもたないこと、肝過酸化脂質に対しては、10 週時において低下効果を発現し、このとき、S-GPT 活性は有意に低下することを示すものである。

考 察

高脂肪食投与による脂肪肝の発生機序に関する検索結果は、すでに数回にわたって報告した¹⁾²⁾⁵⁾⁶⁾。また高脂肪食、とくにコーンオイルを脂肪源として用いた場合、肝に脂肪が蓄積すると同時に肝過酸化脂質も上昇し、さらに血清 GPT 活性の上昇が観察されることも報告し

た¹⁾²⁾。しかし、牛脂を用いた場合の高脂肪食では、脂肪肝は同様に出現するが、過酸化脂質はコーンオイルにくらべて有意に低値を示しており、また血清 GPT 活性の上昇も観察できなかった²⁾。したがってコーンオイル投与時に出現する GPT の上昇には、過酸化脂質の増加が関与しているのではないかと推測された。

カルニチンは、長鎖脂肪酸の膜透過性を促進し、その酸化を亢進する作用があるといわれている^{7)~14)}。またパンテチンは、 β -酸化に重要な CoA の前駆体である。カルニチンまたは CoA は生体内に存在するが、高脂肪食投与時に蓄積する脂肪または過酸化脂質に対して、相対的に不足している可能性も考えられるので、40% コーンオイル食にカルニチンまたはパンテチンを添加した。

Table 1 に示すとおり、カルニチンは、D 型、L 型ともに肝総脂質に対して 7 週まで低下効果を示した。一方、過酸化脂質に対しては 10 週まで抑制効果が認められた。

したがって、7 週までは、すくなくとも、カルニチンの添加により、脂肪酸酸化が亢進し、蓄積した脂肪が減少し、それにともない、過酸化脂質の生成が抑制され、過酸化脂質が低下したのではないかと推測する。

一方、CoA の前駆体であるパンテチンを添加したときの結果は、Table 2 に示されるとおり、10 週投与時に肝総脂質レベルの低下を認めず、過酸化脂質の著明

な減少を観察した。パンテティンの添加により、過酸化脂質が低下することは、パンテティンが過酸化脂質の分解系に関係し、過酸化脂質が β -酸化の基質になりうる可能性が推測される。したがってわれわれは次に、過酸化脂質が、 β -酸化の基質になりうるか否かを、肝スライス系を用いて検討する予定である。

本実験において、40% コーンオイルをふくむ高脂肪食長期投与時に観察される血清 GPT の上昇に、脂肪の蓄積よりも、過酸化脂質の上昇がより関与しているのではないかと推測された。

過酸化脂質の生体膜等における異常生成は、生体膜を損傷し、膜の機能異常を惹起すると考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾が、本実験における GPT 上昇も、生体内過酸化が関与していることを推測させる。

そこでわれわれは、コーンオイルの自動酸化油を作成し、すでに過酸化脂質の上昇した食餌をラットに投与し、肝過酸化脂質および肝障害との関係について検討しているのをおって報告する。

結 論

40% コーンオイルをふくむ高脂肪食投与時に発現する、軽度肝障害の原因をしる目的で、カルニチンまたはパンテティンを添加し、そのときの、肝総脂質、過酸化脂質そして S-GPT の動態を観察した。

1) カルニチンは、D 型、L 型ともに肝脂質に対して、7 週まで低下効果をもち、過酸化脂質に対しては、10 週まで低下作用を示した。このとき、S-GPT は上昇が抑えられた。

2) パンテティンは、10 週まで肝脂質にたいして低下効果をもたないが、過酸化脂質に対しては 10 週で低下

作用を示した。このとき、S-GPT はその上昇が 2/3 に抑えられた。

3) 以上の成績より、40% コーンオイルをふくむ高脂肪食 10 週投与時に観察される S-GPT の上昇は、脂肪の蓄積そのものよりも、過酸化脂質の上昇がより関与しているのではないかと推測した。

文 献

- 1) Sato, F. and Mizunuma, T. : *Tokushima J. Exp. Med.*, **24**, 95 (1977)
- 2) 佐藤文代, 水沼俊美, 岸野泰雄, 奥田拓道 : 栄養と食糧, **30**, 313 (1977)
- 3) Folch, L., Lees, M. and Stanly, G.S.H. : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1975)
- 4) Yagi, K. : *Biochem. Med.*, **15**, 212 (1976)
- 5) 水沼俊美, 佐藤文代, 手塚朋通, 奥田拓道 : 栄養と食糧, **29**, 213 (1976)
- 6) 水沼俊美, 佐藤文代, 岸野泰雄, 奥田拓道 : 栄養と食糧, **31**, 183 (1978)
- 7) Fritz, I.B. and Dupont, P. : *Am. J. Physiol.*, **190**, 453 (1957)
- 8) Adams, E.P., Ballance, P.E. and Blender, A.E. : *Nature*, **185**, 612 (1960)
- 9) Khairallah, E.A. and Wolf, G. : *J. Biol. Chem.*, **242**, 32 (1967)
- 10) Carredor, C., Mansbach, C. and Blessler, R. : *Biochem. Biophys. Acta*, **144**, 366 (1970)
- 11) Fritz, I.B., Kaplan, E. and Yue, K.T.N. : *Am. J. Physiol.*, **202**, 117 (1962)
- 12) Lee, L.P.K. and Fritz, I.B. : *Can. J. Biochem.*, **49**, 599 (1971)
- 13) Fritz, I.B. : *Acta Physiol. Scand.*, **34**, 357 (1955)
- 14) Bremer, J. : *J. Biol. Chem.*, **237**, 3628 (1963)
- 15) Luzio, N.R. Di. : *Fed. Proc.*, **32**, 1875 (1973)
- 16) Kalish, G.H. : *Science*, **152**, 1390 (1966)

(昭和 53 年 3 月 18 日受理)