高コレステロール食ラットの脂質代謝に及ぼす n -3/ n -6 多価不飽和脂肪酸比率の異なる油脂投与の影響

滝田 聖親, 中村 カホル, 鈴木 薫
山梨 なお美, 印 南 敏

東京農業大学農学部栄養学科

Effect of n -3/ n -6 Polyunsaturated Fatty Acid Ratios on Lipid Metabolism in Rats Fed on Hypercholesterolemic Diets

Toshichika TAKITA, Kahoru NAKAMURA, Kaoru SUZUKI,
Naomi YAMANASHI and Satoshi INNAMI

Department of Nutrition, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 317~323 (1992)

Hypercholesterolemic diets containing 15% fat at five different n -3/ n -6 ratios (0.03, 0.14, 0.29, 0.60 and 1.26) were given to male Sprague-Dawley rats for two weeks, and then the lipid concentrations and fatty acid compositions of lipid fractions in serum and liver were determined. The dietary n -3/ n -6 ratio sufficiently effective for reducing the serum total cholesterol (TC) and phospholipid (PL) concentrations in dietary hypercholesterolemic rats was found to be between 0.14 and 0.29. The serum triglyceride concentration did not necessarily respond to changes in the n -3/ n -6 ratio. Liver lipids were slightly affected by variation of the dietary n -3/ n -6 ratio. The fatty acid compositions of serum and liver lipid fractions were affected by changes in the dietary n -3/ n -6 ratio. In the PL fraction of serum and liver, the proportions of C18:2 n -6 and C20:4 n -6 and the ratio of C22:6/C20:5 were decreased, whereas the proportions of C20:5 n -3 and C22:6 n -3 and the ratios of n -3/ n -6 and C20:5/C20:4 were increased with elevation of the dietary n -3/ n -6 ratio. The P/S ratio in serum PL decreased, but that in liver PL did not change. Significant reductions of the C20:4/C18:2 ratio in each of the lipid fractions of serum and liver were observed in the groups containing a dietary n -3/ n -6 ratio of more than 0.14, suggesting that conversion of C18:2 to C20:4 is effectively inhibited by a comparatively small amount of n -3 PUFA (approximately one seventh of n -6 PUFA).

Key Words hypercholesterolemic rat, n -3/ n -6 polyunsaturated fatty acid ratio, P/S ratio, serum lipid, fatty acid composition.

(Received December 7, 1991)

従来、動脈硬化症の危険因子としての血清コレステロール (Chol) に対しては、もっぱら n -6 系の多価不飽和脂肪酸 (PUFA) が注目されてきたが、近年、Bang¹⁾と Dyerberg²⁾ によるエスキモーについての疫学調査以来多くの関心を集め、魚油と人間の脂質代謝との関係について精力的に研究が行われている³⁾。これまでの研究では n -6 PUFA を含む植物油より n -3 PUFA を含む魚油のほうが、血清脂質改善効果が強いとの報告が多い^{4)~10)}。したがって、 n -3 PUFA の摂取も動脈硬化性

疾患の予防上重要であると考えられるようになったが、問題は血清脂質の改善には n -6 PUFA と n -3 PUFA の割合がどのくらいあれば適当であるかということである。これまでのところ、適切な n -3/ n -6 比に関する研究報告は多くなく、ごく限られている。

Neuringer¹¹⁾ は最適な n -3/ n -6 比は 0.1~0.25 であるとしているが、人乳の脂肪酸組成を参考にしたものである。菅野¹²⁾ は人血清 Chol 濃度の上昇を抑制し、血栓症を予防するためには 0.2~0.33 (n -6/ n -3 比 3~5) が一応の目安と紹介している。動物実験における成績では健常ラットを用いた Lee¹³⁾ や著者¹⁴⁾ のもの

が若干あるのみで、高 Chol 食ラットにおける血清 Chol 濃度低下に最も有効な $n-3/n-6$ 比についての研究はほとんど見当たらない。ところで高 Chol 食でのこの種の研究にあたって考慮しなければならないことは Chol が脂肪酸代謝、とくに PUFA の不飽和化の程度に影響するということである¹⁵⁾¹⁶⁾。このことは Chol が $n-3$ や $n-6$ PUFA の代謝に影響することを示すもので、Chol を負荷した場合は血清 Chol 濃度低下に適切な $n-3/n-6$ 比にも影響することが考えられる。

そこで、今回は高 Chol 食ラットにおける血清と肝臓の脂質改善作用ならびに脂質各画分の PUFA パターンおよびその比率と飼料油脂の $n-3/n-6$ 比との関連性について検討したので報告する。

実験方法

1. 実験動物

4 週齢の Sprague-Dawley 系の雄ラットを用い、基礎飼料で 1 週間予備飼育後、成長に異常のないラットのみを 1 群 6 匹ずつとし、1 匹ずつステンレス製のケージに入れ飼育した。飼育室の室温は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 5\%$ に調節し、明暗は 12 時間周期（明期 8:00~20:00）とした。

2. 実験飼料および飼料投与法

実験飼料の組成は Table 1 に示した。油脂源は、各群ラード 10% をベースとし、さらに各群に精製いわし油（日本油脂（株））とコーン油の混合割合の異なる油脂を 5% レベルで添加した。各群の油脂の P/S 比と $n-3/n-6$ 比は Table 1 に示すとおりである。飼料への油脂の混合は酸化を防ぐため毎夕 5:00 に行い、その後ただちに投与した。翌朝残餌を取り除き 9:00~17:00 の間は飼料を与えなかった。水は自由摂取とした。

3. 動物処理法

2 週間の実験期間の最終日、6:00 から 13:00 まで絶食後、ネブタール麻酔下で心臓穿刺により採血、屠殺し、ただちに血液および肝臓を採取した。

血液は採血後、3,500 rpm、15 分の条件で遠心分離を行い血清を分離した。肝臓は、0.9% 食塩水を門脈から還流して脱血した。

4. 分析法

血清中の総 Chol (TC)、トリグリセリド (TG)、リン脂質 (PL) および高比重リポタンパク質-Chol (HDL-C) の各濃度と、肝臓脂質の TC、TG および PL 各濃度は和光純薬のキットを用いて測定した。

血清および肝臓からの脂質の抽出は Folch らの方法に準拠して行い、抽出した脂質は薄層クロマトグラフィーにより PL、TG および Chol エステル (CE) 画分を得た¹⁷⁾。

Table 1. Combination ratios of test oils used in each group.

Oils	(g)				
	I	II	III	IV	V
Corn oil	5.00	3.75	2.50	1.25	
Fish oil		1.25	2.50	3.75	5.00
P/S ratio	0.94	0.85	0.74	0.67	0.60
$n-3/n-6$ ratio	0.03	0.14	0.29	0.60	1.26

The composition of diets used in the experiment except test oils is as follows through I to V group (g/100 g): sucrose 54.25, casein 20.00, lard 10.00, cellulose powder 5.00, AIN-76 mineral mix. 3.50, AIN-76 vitamin mix. 1.00, cholesterol 0.50, DL-methionine 0.30, sodium cholate 0.25 and choline bitartrate 0.20. Each experimental group contains 5g of each test oil.

脂肪酸組成の測定は、抽出に用いたクロロホルム：メタノール混液（2：1）を留去し、常法に従って三フッ化ホウ素メタノール法によりメチル化後、ガスクロマトグラフィーにより分析した。条件は、カラム 0.25 mm × 40 m, SILAR-5CP, カラム温度 200°C, 注入口温度 250°C, キャリアガス N_2 とした。脂肪酸の同定は、同族体炭素数と保持時間との関係や標品との保持時間の比較により行った。

各データの統計処理には一元配置分散分析と Student's *t*-test を用いた。

結果

1. 血清脂質

$n-3/n-6$ 比の異なる油脂を投与した場合の血清脂質濃度の変化は Table 2 に示した。

TC 濃度は I 群 ($n-3/n-6$ 比 0.03) に比して、同比 0.14 以上のいずれの群でも有意に低値を示した。HDL-C 濃度は I 群に比べて II 群では有意な差が認められなかった。また、I、II 群に比して、同比 0.29 以上の III~V 群では有意に高値を示した。TG 濃度は I、V 群で低く、II、III、IV 群で高い傾向にあり、油脂の $n-3/n-6$ 比の変動との間には一定の関連性が認められなかった。PL 濃度は I 群に比して、 $n-3/n-6$ 比 0.29 以上の III~V 群で有意に低値を示した。

2. 肝臓脂質

$n-3/n-6$ 比の異なる油脂を投与した場合の肝臓脂質濃度の変化は Table 2 に示した。

TC 濃度は油脂の $n-3/n-6$ 比が変化してもほとんど変動は認められなかった。TG 濃度も TC とほぼ似ているが、V 群が高値を示した。PL 濃度は $n-3/n-6$ 比が上昇

Table 2. Lipid concentrations of serum and liver in rats fed on the experimental diets.

Group (n-3/n-6)	I (0.03)	II (0.14)	III (0.29)	IV (0.60)	V (1.26)
Serum, mg/dl					
Total cholesterol	181.3±7.8 ^a	137.8±11.2 ^b	146.0±6.8 ^b	145.3±12.2 ^b	141.9±11.9 ^b
HDL-cholesterol	27.1±1.1 ^a	26.0±0.4 ^a	31.5±1.3 ^b	31.5±0.3 ^b	31.6±1.6 ^b
Triglyceride	83.9±5.7 ^a	107.2±10.4 ^{ab}	110.8±7.8 ^b	108.3±5.4 ^b	84.9±5.4 ^a
Phospholipid	160.5±4.2 ^a	143.9±6.9 ^{ab}	134.7±4.7 ^b	144.6±5.4 ^b	142.1±4.7 ^b
Liver, mg/g					
Total cholesterol	55.8±2.7 ^{ab}	55.0±3.2 ^{ab}	53.7±0.9 ^b	55.3±3.0 ^{ab}	59.9±2.1 ^a
Triglyceride	80.0±4.2 ^{ab}	88.6±6.5 ^{ac}	83.8±4.8 ^{ac}	88.2±5.2 ^{bc}	99.8±6.5 ^c
Phospholipid	32.8±0.8 ^a	31.5±1.0 ^a	30.4±0.9 ^a	29.8±2.1 ^{ab}	26.2±0.8 ^b

* Values are means±SE of six rats; values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

するにつれて低下する傾向を示した。

3. 血清と肝臓脂質各画分の脂肪酸組成

両組織の脂質各画分を通じて PUFA 以外で含有割合の多かった脂肪酸は C16:0 と C18:1 であり PL 画分には C18:0 (心臓で 16% 前後, 肝臓で 20% 前後), CE 画分には C16:1 (両組織とも 10% 前後) が多かった。これらの脂肪酸は油脂の P/S 比と $n-3/n-6$ 比を変化させた場合, 有意に増加する群あるいは減少する群がみられたもののその変動幅は大きくなく, 同比の変化による影響は概して小さいことを認めた。したがって, ここでは主要な PUFA, P/S 比, $n-3/n-6$ 比, C20:4/C18:2 比, C20:5/C20:4 比および C22:6/C20:5 比の変動を中心に述べるが, C20:5/C20:4 比については表中に掲げなかった。

1) 血清脂質各画分の脂肪酸組成 $n-3/n-6$ 比の異なる油脂を投与した場合の血清 PL, TG および CE 画分のおもな PUFA と脂肪酸比の変動は Table 3 に示した。

(1) PL 画分の脂肪酸組成 C18:2 $n-6$ の割合は $n-3/n-6$ 比 0.03 (I 群) より 0.14 (II 群) にかけて増加するがそれ以後比率が上昇するにつれて減少, C20:4 $n-6$ の割合は $n-3/n-6$ 比の上昇につれて減少した。C20:5 $n-3$ の割合は同比の上昇につれて増加することを認めた。C22:5 $n-3$ の割合の変動はわずかであった。C22:6 $n-3$ の割合は I 群に比べ $n-3$ PUFA の割合の多くなる II~V 群が有意に高かったが, II~V 群間では変動がほとんど認められなかった。P/S 比は油脂の P/S 比の低下に伴い減少した。 $n-3/n-6$ 比および C20:5/20:4 比は油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇につれて増加した。C20:4/C18:2 比は I 群 ($n-3/n-6$ 比 0.03) では 1.19 と高値を示したが, $n-3$ PUFA 割合の多くなる II~V 群では有意な低下を示した。しかし, II~V 群の間では有意差

はみられなかった。C22:6/C20:5 比は I 群に比べて II 群で高かったが, III 群以上では比率の上昇につれて減少した。

(2) TG 画分の脂肪酸組成 C18:2 $n-6$ と C20:4 $n-6$ の割合は油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い減少を示した。C18:2 $n-6$ の割合の減少程度は油脂中の C18:2 $n-6$ の割合に対応した。C20:4 $n-6$ の割合は全群で低かったが, $n-3/n-6$ 比の上昇につれて減少を示した。C20:5 $n-3$ の割合は I 群に比べ II~V 群では有意な増加を示したが, II 群以上では大きな変動が認められなかった。C22:5 $n-3$ と C22:6 $n-3$ は II 群以上で認められ, C22:5 $n-3$ の割合は II 群に比べて III 群以上で有意な増加を示したが, C22:6 $n-3$ の割合は II 群以上では, 大きな変動が認められなかった。P/S 比は I と V 群で差がなく, この両群に比べ II, III, IV 群で有意な増加または増加傾向を示した。 $n-3/n-6$ 比と C20:5/C20:4 比は油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い増加した。C20:4/C18:2 比は I 群に比べ, 同比 0.14 以上の 4 群では有意な減少を示した。C22:6/C20:5 比は I 群に比べ II 群以上で高値を示したが, II~V 群の間ではほとんど差が認められなかった。

(3) CE 画分の脂肪酸組成 C18:2 $n-6$ と C20:4 $n-6$ の割合は油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い減少した。一方, C20:5 $n-3$ の割合は $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い増加を示したが, 同比 0.60 以上の IV 群と V 群では差がなかった。C22:6 $n-3$ の割合はいずれの群でも 1.0% 以下と低かったものの比率の上昇に伴い増加傾向を示した。P/S は I 群から V 群にかけて漸次減少した。 $n-3/n-6$ 比と C20:5/20:4 比は油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い増加した。C20:4/C18:2 比は I 群が他の 4 群より有意に高かったが, II 群以上の試験群では差がみられず変動しにくい傾向を示した。C22:6/C20:5 比は I 群では算

Table 3. Fatty acid composition and fatty acid ratio of phospholipid, triglyceride and cholesterol ester fraction in serum of rats fed on the experimental diet.

Group (<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6)		I (0.03)	II (0.14)	III (0.29)	IV (0.60)	V (1.26)
PL	C18 : 2 <i>n</i> -6	14.1±0.4 ^a	17.3±0.2 ^b	16.7±0.6 ^c	12.6±1.0 ^{a,d}	10.6±0.4 ^d
	C20 : 4 <i>n</i> -6	16.6±0.4 ^a	7.8±0.4 ^b	6.2±0.9 ^{b,c}	5.6±0.3 ^c	4.4±0.6 ^c
	C20 : 5 <i>n</i> -3	0.5±0.1 ^a	1.0±0.1 ^b	2.1±0.2 ^c	3.1±0.2 ^d	3.5±0.3 ^d
	C22 : 5 <i>n</i> -3	1.2±0.2 ^{a,b}	1.2±0.1 ^a	1.6±0.2 ^b	1.3±0.1 ^a	0.9±0.2 ^a
	C22 : 6 <i>n</i> -3	1.6±0.1 ^a	4.4±0.2 ^b	4.6±0.4 ^b	4.8±0.4 ^b	4.3±0.5 ^b
	P/S	0.74±0.05 ^a	0.73±0.01 ^a	0.70±0.06 ^a	0.60±0.03 ^b	0.47±0.03 ^c
	<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0.12±0.02 ^a	0.22±0.02 ^b	0.33±0.03 ^c	0.48±0.02 ^d	0.53±0.05 ^d
	C20 : 4/C18 : 2	1.19±0.08 ^a	0.44±0.02 ^b	0.37±0.05 ^b	0.45±0.11 ^b	0.40±0.05 ^b
	C22 : 6/C20 : 5	4.03±0.38 ^a	4.71±0.47 ^a	2.02±0.08 ^b	1.58±0.19 ^b	1.52±0.23 ^b
	TG	C18 : 2 <i>n</i> -6	16.1±0.9 ^a	15.6±0.3 ^a	13.5±0.3 ^b	10.2±0.4 ^c
C20 : 4 <i>n</i> -6		2.3±0.2 ^a	1.3±0.1 ^b	1.0±0.1 ^c	0.8±0.1 ^c	0.6±0.0 ^d
C20 : 5 <i>n</i> -3		0.6±0.0 ^a	2.2±0.3 ^b	2.8±0.3 ^{b,c}	3.2±0.2 ^c	2.8±0.2 ^{b,c}
C22 : 5 <i>n</i> -3		Tr	1.5±0.0 ^a	2.4±0.1 ^b	2.1±0.2 ^b	2.1±0.2 ^b
C22 : 6 <i>n</i> -3		Tr	3.0±0.2 ^a	4.2±0.2 ^b	4.1±0.6 ^{a,b}	3.9±0.3 ^a
P/S		0.66±0.05 ^{a,b}	0.86±0.02 ^c	0.95±0.02 ^d	0.75±0.05 ^{b,c}	0.56±0.03 ^a
<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6		0.04±0.00 ^a	0.41±0.02 ^b	0.68±0.04 ^c	0.94±0.02 ^d	0.89±0.03 ^d
C20 : 4/C18 : 2		0.15±0.01 ^a	0.09±0.01 ^b	0.07±0.00 ^c	0.08±0.00 ^b	0.08±0.01 ^{b,c}
C22 : 6/C20 : 5			1.47±0.24 ^{a,b}	1.59±0.16 ^a	1.37±0.10 ^{a,b}	1.15±0.13 ^a
CE		C18 : 2 <i>n</i> -6	12.5±0.5 ^a	12.8±0.3 ^a	10.9±0.3 ^b	8.7±0.3 ^c
	C20 : 4 <i>n</i> -6	8.8±0.7 ^a	6.5±0.6 ^b	4.7±0.6 ^c	4.6±0.3 ^c	3.8±0.3 ^c
	C20 : 5 <i>n</i> -3	0.5±0.1 ^a	1.9±0.2 ^b	3.0±0.3 ^c	4.6±0.2 ^d	4.5±0.5 ^d
	C22 : 6 <i>n</i> -3	Tr	0.5±0.1 ^a	0.8±0.0 ^b	0.9±0.1 ^c	0.8±0.1 ^{b,c}
	P/S	1.68±0.05 ^a	1.49±0.08 ^{a,b}	1.28±0.06 ^{b,c}	1.20±0.05 ^c	0.94±0.05 ^d
	<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0.04±0.00 ^a	0.15±0.01 ^b	0.27±0.02 ^c	0.45±0.02 ^d	0.52±0.05 ^d
	C20 : 4/C18 : 2	0.71±0.07 ^a	0.50±0.03 ^b	0.42±0.04 ^b	0.52±0.03 ^b	0.55±0.04 ^{a,b}
	C22 : 6/C20 : 5		0.22±0.05 ^{a,b}	0.25±0.02 ^b	0.20±0.02 ^{a,b}	0.17±0.01 ^a

* Values are means±SE of six rats; values in a line not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$. Tr : Trace amount (less than 0.1%).

出できなかったが、II～V群の間における変動幅は小さかった。

2) 肝臓脂質各画分の脂肪酸組成 *n*-3/*n*-6 比の異なる油脂を投与した場合の肝臓脂質各画分の脂肪酸組成の変動は Table 4 に示した。

(1) PL 画分の脂肪酸組成 C18 : 2 *n*-6 の割合は I 群から III 群にかけて増加するが、*n*-3/*n*-6 比の高い IV と V 群では逆に減少した。C20 : 4 *n*-6 の割合は *n*-3/*n*-6 比が上昇するにつれて減少した。C20 : 5 *n*-3 の割合は同比の上昇に伴い増加したが、C22 : 5 *n*-3 の割合の変動は少なかった。C22 : 6 *n*-3 の割合は IV 群まで有意に増加し

たが、V 群における割合は IV 群のそれと差がなかった。

P/S 比は各群間で有意差は認められず油脂の P/S 比あるいは *n*-3P/*n*-6P 比の影響を受けにくいことが示された。*n*-3/*n*-6 比と C20 : 5/20 : 4 比は油脂の *n*-3/*n*-6 比が上昇するにつれて高くなった。C20 : 4/C18 : 2 比は I 群に比べて II 群で半減し、さらに II 群に比べて III～V 群では有意な減少を示したが、III～V 群間では有意差がなく、*n*-3/*n*-6 比 0.29 以上では変動しにくいことが認められた。C22 : 6/C20 : 5 比は、算出できなかった I 群を除き *n*-3/*n*-6 比の上昇につれて有意に減少した。

(2) TG 画分の脂肪酸組成 C18 : 2 *n*-6 の割合は油脂

Table 4. Fatty acid composition and fatty acid ratio of phospholipid, triglyceride and cholesterol ester fraction in liver of rats fed the experimental diet.

	Group (<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6)	I (0.03)	II (0.14)	III (0.29)	IV (0.60)	V (1.26)
PL	C18 : 2 <i>n</i> -6	13.5±0.4 ^a	15.4±0.4 ^b	15.2±0.4 ^c	11.9±0.2 ^c	10.3±0.3 ^d
	C20 : 4 <i>n</i> -6	23.8±0.6 ^a	13.0±0.2 ^b	10.2±0.3 ^c	9.0±0.4 ^d	7.8±0.3 ^e
	C20 : 5 <i>n</i> -3	Tr	2.4±0.1 ^a	3.1±0.2 ^b	4.8±0.3 ^c	5.6±0.5 ^c
	C22 : 5 <i>n</i> -3	ND	2.2±0.2 ^a	2.2±0.2 ^a	2.6±0.2 ^{ab}	2.9±0.1 ^b
	C22 : 6 <i>n</i> -3	5.6±0.2 ^a	12.8±0.4 ^b	13.6±0.1 ^b	14.9±0.4 ^c	14.4±0.2 ^c
	P/S	1.12±0.05	1.08±0.07	1.04±0.06	1.21±0.10	0.99±0.02
	<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0.14±0.01 ^a	0.57±0.02 ^b	0.66±0.05 ^b	1.01±0.05 ^c	1.19±0.05 ^d
	C20 : 4/C18 : 2	1.76±0.07 ^a	0.85±0.02 ^b	0.67±0.03 ^c	0.76±0.03 ^c	0.77±0.03 ^c
	C22 : 6/C20 : 5		5.42±0.30 ^a	4.45±0.31 ^b	2.99±0.11 ^b	2.68±0.22 ^b
	TG	C18 : 2 <i>n</i> -6	13.4±0.5 ^a	12.9±0.3 ^a	10.9±0.3 ^b	8.8±0.2 ^c
C20 : 4 <i>n</i> -6		0.5±0.1 ^a	0.3±0.0 ^a	0.2±0.1 ^b	0.2±0.0 ^b	0.2±0.1 ^b
C20 : 5 <i>n</i> -3		ND	0.8±0.1 ^a	0.8±0.0 ^a	2.4±0.1 ^b	2.9±0.1 ^c
C22 : 5 <i>n</i> -3		ND	1.1±0.1 ^a	1.3±0.3 ^a	2.7±0.4 ^b	3.5±0.3 ^b
C22 : 6 <i>n</i> -3		ND	1.7±0.1 ^a	1.9±0.1 ^a	5.6±0.3 ^b	6.8±0.2 ^c
P/S		0.59±0.03 ^a	0.71±0.03 ^b	0.62±0.02 ^a	0.89±0.04 ^c	0.94±0.05 ^c
<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6		0.01±0.00 ^a	0.29±0.01 ^b	0.37±0.02 ^c	1.30±0.05 ^d	1.95±0.06 ^a
C20 : 4/C18 : 2		0.04±0.01 ^a	0.03±0.00 ^a	0.01±0.00 ^b	0.03±0.00 ^a	0.03±0.01 ^{ab}
C22 : 6/C20 : 5			2.04±0.19	2.17±0.18	2.30±0.16	2.43±0.17
CE		C18 : 2 <i>n</i> -6	10.2±0.2 ^a	8.7±0.2 ^b	7.0±0.2 ^c	5.4±0.1 ^d
	C20 : 4 <i>n</i> -6	1.1±0.1 ^a	0.6±0.0 ^b	0.4±0.0 ^c	0.3±0.0 ^d	0.4±0.1 ^{cd}
	C20 : 5 <i>n</i> -3	Tr	1.0±0.1 ^a	1.0±0.1 ^a	1.7±0.1 ^b	2.2±0.2 ^c
	C22 : 6 <i>n</i> -3	Tr	0.6±0.0 ^a	0.6±0.0 ^a	0.9±0.0 ^b	1.1±0.2 ^b
	P/S	0.90±0.03 ^a	0.87±0.03 ^a	0.69±0.03 ^b	0.65±0.03 ^{bc}	0.56±0.03 ^c
	<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0.04±0.00 ^a	0.24±0.01 ^b	0.29±0.02 ^c	0.56±0.01 ^d	0.86±0.09 ^e
	C20 : 4/C18 : 2	0.11±0.01 ^a	0.07±0.00 ^b	0.06±0.00 ^c	0.06±0.00 ^{bc}	0.09±0.02 ^{abc}
	C22 : 6/C20 : 5		0.51±0.12	0.38±0.12	0.53±0.02	0.48±0.06

* Values are means±SE of six rats; values in a line not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$. Tr: Trace amount (less than 0.1%), ND: Not detected.

の n-3/n-6 比が上昇するにつれて減少したが、C20 : 4 n-6 の割合は I 群に比べて II 群、II 群に比べて III, IV, V 群がそれぞれ有意な減少を示した。一方、C20 : 5 n-3, C22 : 5 n-3 および C22 : 6 n-3 の割合は油脂の n-3/n-6 比の上昇に伴い増加した。

P/S 比, n-3/n-6 比および C20 : 5/C20 : 4 比は、油脂の n-3/n-6 比が上昇するにつれて増加した。C20 : 4/C18 : 2 比はいずれの群でも低く、各群の変動も小さかった。C22 : 6/C20 : 5 比は算出値の得られなかった I 群を除き、II ~ V 群の間で有意な変化は認められなかった。

(3) CE 画分の脂肪酸組成 C18 : 2 n-6 の割合は油脂

の n-3/n-6 比が上昇するにつれて減少した。C20 : 4 n-6 の割合も I 群から IV 群まで減少し、IV と V 群では有意差はみられなかった。C20 : 5 n-3 と C22 : 6 n-3 の割合は比率の上昇に伴い増加した。

P/S 比は油脂の P/S 比の低下に対応した変動を示した。n-3/n-6 比と C20 : 5/20 : 4 比は油脂の n-3/n-6 比の上昇に伴い増加した。C20 : 4/C18 : 2 比はどの群も低く、油脂の n-3/n-6 比の変化との間に一定の関連性はみられなかった。C22 : 6/C20 : 5 比は算出値の得られなかった I 群を除き II ~ V 群の間で有意な変化は認められなかった。

考 察

著者らの、今回の実験では油脂の P/S 比を 0.94~0.60 の範囲で、 $n-3/n-6$ 比を変化させた場合、 $n-3/n-6$ 比が血清脂質レベルに強く影響していることが確かめられた。とくに血清 TC 濃度は P/S 比 0.94, $n-3/n-6$ 比 0.03 の I 群に比べて、P/S 比がそれより少しずつ低く $n-3/n-6$ 比 0.14 以上の II~V 群において有意に低値を示した。しかし、II 群から V 群へと $n-3$ PUFA の比率を高めても血清 TC 濃度に差がみられなかったのは P/S 比が低下したためと推測されるが、後述するように、PL 画分における C22:6/C20:5 比の低下も原因しているかもしれない。いずれにせよ高 Chol 食ラットを用いた今回の実験条件において血清 TC 濃度の低下に必要な $n-3/n-6$ 比は 0.14~0.29 程度で十分であることを認めた。

著者ら¹⁴⁾が先に観測した健常ラットにおける血清 Chol 濃度低下作用の効果的な $n-3/n-6$ 比レベルは 0.92~2.34 と高かったことに比べるとかなり低くなっている。今回のような Chol 負荷の場合は $n-6$ PUFA より $n-3$ PUFA の効果のほうが強いことが認められている⁵⁾⁶⁾¹⁸⁾ことから考えると当然のことと思われる。なお、Lee ら¹⁹⁾による健常ラットでの実験では血清と肝臓の脂質レベルやエイコサノイド産生に影響する最大のポイントは P/S 比 1.2 の場合、 $n-6/n-3$ 比 5, つまり $n-3/n-6$ 比換算では 0.2 であるとしており、P/S 比と $n-3/n-6$ 比との関連性の深さを表している。以上は動物実験での成績であるが、得られた事実は人の場合でも動脈硬化予防を目的として食事脂質の血清 TC 濃度に及ぼす影響を論ずるにあたっては P/S 比のみでなく、 $n-3/n-6$ 比をも考慮に入れることが大切であることを示すものであろう。

次に血清 TG 濃度は、P/S 比の最も高い I 群と $n-3/n-6$ 比の最も高い V 群が II~IV 群に比して低下傾向を認めた。このことは、血清 TG も食事脂質の P/S 比と $n-3/n-6$ 比の影響を受けやすいことを示唆しているが、今回の実験では同比を 1.26 まで増加させても一定の関連性が認められなかった。一般的に、血清 TG 濃度の低下作用は血清 TG 濃度の高いほど低下率が大いことから¹⁹⁾、今回は高 Chol 食のため血清 TG 濃度が 100 mg/dl 前後で、さほど高値を示していなかったことが $n-3/n-6$ 比の上昇に対して一定のレスポンスの得られなかった一要因かもしれない。

臓器のなかでもとくに、肝臓は C18:2 $n-6$ から 2 系列のプロスタグランジンの前駆体である C20:4 $n-6$ の合成において重要な器官であり、C18:2 から C20:4 への転換の程度は食事の $n-3$ PUFA 量と密接に関連し

て変動する^{20)~22)}。また、肝臓は、他の組織における脂肪酸組成に影響を及ぼす²³⁾。それゆえ、食事 $n-3/n-6$ 比と組織(肝臓と肝外組織)中の主要な $n-3$ PUFA と $n-6$ PUFA 比レベルの関連性を明らかにすることも重要である。

最近の研究では、 $n-3$ PUFA の多い食事の摂取では血栓形成阻止作用のみられることが示されている^{24)~26)}。魚油を与えたあとに起こる血小板膜リン脂質中の C20:5/C20:4 比の増加は血小板凝集の低下に関わっていることが示唆されている²⁷⁾²⁸⁾。また、他の研究者は、C20:5 $n-3$ は血小板リン脂質からの C20:4 $n-6$ の遊離を低下させることを認めている²⁹⁾。Lokesh ら³⁰⁾によれば、C20:5 $n-3$ は C20:4 $n-6$ からの TXA₂ の形成を阻害するが、これは cyclooxygenase レベルにおいて C20:4 $n-6$ と拮抗するためであると報告している。今回の実験結果において油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇により肝臓と血清 PL 画分の $n-3/n-6$ 比と C20:5/C20:4 比が増加したことは血小板凝集作用の低下している可能性を示唆しているといえよう。

魚油を与えると Δ^6 -desaturase 活性が抑制され C18:2 $n-6$ から C20:4 $n-6$ への転換が阻害されることが知られている^{20)~22)}。飼料に Chol を添加した今回の実験でも魚油を含まない I 群 ($n-3/n-6$ 比 0.03) の血清、肝臓 PL では C20:4/C18:2 比が他群に比して高く、C18:2 からの C20:4 への転換が促進されるため C18:2 $n-6$ の割合が II, III 群に比して低かったものと思われる。このことは C20:4 $n-6$ の割合が多かったことから裏づけられる。一方、魚油を混合した II~V 群では血清と肝臓 PL 画分の C20:4/C18:2 比は I 群に比べて有意に低かったことから C18:2 から C20:4 の転換は著しい抑制を受けるが、 $n-3/n-6$ 比 0.14 以上では C20:4/C18:2 比がほぼ一定の値を示したことから、その転換抑制は $n-6$ PUFA の少なくとも 7 分の 1 という比較的少ない $n-3$ PUFA で行われるものと考えられた。また、 $n-3/n-6$ 比が上昇するにつれて血清と肝臓 PL 画分の C22:6/C20:5 比は減少し、C20:5 の割合は増加を示した。このことは飼料に添加した Chol が $n-3$ PUFA の割合が増加するほど、C20:5 から C22:6 への代謝過程を低下させることを意味するのではないかと考えられた。 $n-3/n-6$ 比の低いレベル (0.14) に比べて高いレベル (0.60, 1.26) において血清 Chol 濃度の低下しなかった理由の一つにはこの減少が関係しているかもしれない。しかし、負荷した Chol が血清 Chol 濃度低下に適切な $n-3/n-6$ 比に影響したと明言することはできず、今後さらに検討する必要がある。

要 約

油脂の $n-3/n-6$ 比を5段階 (0.03, 0.14, 0.29, 0.60, 1.26) に変化させ、それらを 15% 含む高 Chol 飼料を SD 系雄ラットに2週間投与した場合、血清と肝臓の脂質改善作用ならびに脂質各画分の PUFA パターンおよびその比率と飼料油脂の $n-3/n-6$ 比との関連性について検討した。その結果は次のとおりである。

高 Chol 食ラットにおける血清 TC と PL 濃度の低下には $n-3/n-6$ 比 0.14~0.29 程度で十分であることが認められた。血清 TG 濃度は必ずしも $n-3/n-6$ 比に対応して変動しなかった。肝臓の各脂質濃度は飼料油脂の $n-3/n-6$ 比の影響を受けにくい傾向が認められた。

血清と肝臓それぞれの脂質各画分の PUFA 組成は、一般的に油脂の $n-3/n-6$ 比の影響を受け変動した。両組織 PL 画分では、油脂の $n-3/n-6$ 比の上昇に伴い C18:2 $n-6$ と C20:4 $n-6$ の割合および C22:6/C20:5 比は減少、C20:5 $n-3$ と C22:6 $n-3$ の割合および $n-3/n-6$ 比と C20:5/C20:4 比は増加した。油脂の P/S 比の低下に応じて血清 PL の P/S 比は減少、肝臓 PL の P/S 比には変動がみられなかった。両組織脂質各画分の C20:4/C18:2 比は油脂の $n-3/n-6$ 比 0.14 以上の群で低下がみられた。このことは C18:2 から C20:4 への転換は比較的少量の $n-3$ PUFA ($n-6$ PUFA の約 7 分の 1) で効果的に阻害されることを示唆している。

文 献

- 1) Bang, H.O., Dyerberg, J. and Nielsen, A.: *Lancet*, I, 1143 (1971)
- 2) Bang, H.O. and Dyerberg, J.: *Acta Med. Scand.*, 192, 85 (1972)
- 3) Dyerberg, J., Bang, H.O. and Hjorne, N.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 958 (1975)
- 4) Harris, W.S.: *J. Lipid Res.*, 30, 785 (1989)
- 5) Peifer, J.J., Lundberg, W.O., Ishio, S. and Warmanen, E.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 110, 270 (1965)
- 6) Balasubramaniam, S., Simons, L.A., Chang, S. and Hickie, J.B.: *J. Lipid Res.*, 26, 684 (1985)
- 7) Roshanai, F. and Sander, T.A.B.: *Am. Nutr. Metab.*, 29, 189 (1985)
- 8) 鄭 承鏞, 滝田聖親, 中村カホル, 早川享志, 福富麻子, 西郷光彦, 印南 敏: 栄食誌, 41, 279 (1984)
- 9) Kobatake, Y., Kuroda, K., Jinnouchi, H., Nishide, E. and Innami, S.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 30, 357 (1984)
- 10) 谷口裕信, 滝田聖親, 中村カホル, 早川享志, 鈴木 薫, 印南 敏: 栄食誌, 44, 105 (1991)
- 11) Neuringer, M., Anderson, G.J. and Connor, W.E.: *Ann. Rev. Nutr.*, 8, 517 (1988)
- 12) 菅野道廣, 池田郁男: 油化学, 40, 831 (1991)
- 13) Lee, J.H., Fukumoto, M., Nishida, H., Ikeda, I. and Sugano, M.: *J. Nutr.*, 119, 1893 (1989)
- 14) 滝田聖親, 中村カホル, 早川享志, 福富麻子, 印南 敏: 栄食誌, 47, 141 (1989)
- 15) Garg, M.L., Thomson, A.B.R. and Clandinin, M.T.: *J. Nutr.*, 118, 661 (1988)
- 16) Garg, M.L., Sebokova, E., Thomson, A.B.R. and Clandinin, M.T.: *Biochem. J.*, 249, 351 (1988)
- 17) Schlierf, G. and Wood, P.: *J. Lipid Res.*, 6, 317 (1965)
- 18) Goodnight, S.H., Jr., Harris, W.S., Connor, W.E. and Illingworth, D.R.: *Arteriosclerosis (Dallas)*, 2, 87 (1982)
- 19) Phillipson, B.E., Rothrock, D.W., Connor, W.E., Harris, W.S. and Illingworth, R.D.: *N. Engl. J. Med.*, 312, 1210 (1985)
- 20) Herold, P.M. and Kinsella, J.E.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 43, 566 (1986)
- 21) Swanson, J.E., Black, J.M. and Kinsella, J.E.: *J. Nutr.*, 117, 824 (1987)
- 22) Hwang, D.H., Boudreau, M. and Chanmugam, P.: *J. Nutr.*, 118, 427 (1988)
- 23) Kinsella, J.E., Broughton, S. and Whwlan, J.: *J. Nutr. Biochem.*, 1, 123 (1990)
- 24) Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 72, 2994 (1975)
- 25) Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffersons, E., Moncada, S. and Vane, J.R.: *Lancet*, II, 117 (1978)
- 26) Ahmed, A.A. and Holub, B.J.: *Lipids*, 19, 617 (1986)
- 27) Dyerberg, J.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.*, 294, 373 (1981)
- 28) Sanders, T.A.B., Vickers, M. and Haines, A.P.: *Clin. Sci.*, 61, 317 (1981)
- 29) Needleman, P., Raz, A., Minkes, M.S., Ferrendelli, J.A. and Sprecher, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 76, 944 (1979)
- 30) Lokesh, B., Bruckner, G. and Kinsella, J.E.: *Prostaglandin Leukotriene Med.*, 15, 337 (1984)

(1991年12月7日受理)