研究ノート

ラットにおける α -リノレン酸とリノール酸の生体内における酸化率の比較

乾 賢一*, 茶木啓孝**, 福田泰彦**,
国場幸史**, 片岡美紀子**

* ルセル森下株式会社臨床開発部

** 日本ヘキスト・マリオン・ルセル株式会社
開発研究所

In vivo Oxidation of α -Linolenic Acid and Linoleic Acid in Rats

Kenichi INUI,* Hirotaka CHAKI,**
Yasuhiko FUKUTA,** Yukifumi KOKUBA**
and Mikiko KATAOKA**

* *Clinical Development Department, Roussel Morishita
Co., Ltd., Minato-ku, Tokyo 107*

** *Development Laboratories, Nippon Hoechst Marion
Roussel, Ltd., Yasu-cho, Yasu-gun, Shiga 520-23*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn.
Soc. Nutr. Food Sci.*) 49, 360~362 (1996)

A study was conducted to investigate the *in vivo* oxidation of α -linolenic acid and linoleic acid as an energy substrates. Rats received an intravenous infusion of 1-[14 C]- α -linolenic acid and 1-[14 C]-linoleic acid for 3 h. Cumulative excretion of expired $^{14}\text{CO}_2$ for 24 h was significantly higher after infusion of α -linolenic acid ($66.7 \pm 10.6\%$) than after linoleic acid ($49.3 \pm 5.6\%$). Radioactivity in the tissue at 24 h after infusion was 1~2% in the liver, <0.5% in the adipose tissue, and <0.1% in the plasma, spleen and muscle. The radioactivity in the liver and adipose tissue was significantly lower after infusion of α -linolenic acid. From these results, it is suggested that α -linolenic acid is preferentially oxidized and utilized as an energy substrate compared with linoleic acid.

Key Words α -linolenic acid, linoleic acid, *in vivo* oxidation, CO_2 excretion.

(Received June 10, 1996)

脂肪は主要なエネルギー基質であり、静脈栄養時においては脂肪乳剤として投与される。一般に、脂肪を経口摂取した場合、トリグリセリド構成脂肪酸の炭素数や不飽和度によってエネルギー産生効率が異なることが知られている¹⁾²⁾。しかし、静脈栄養時のエネルギー基質としての n -6 系脂肪酸と n -3 系脂肪酸のエネルギー産生効率を比較した報告はみられない。そこで今回、静脈栄養時における n -3 系必須脂肪酸である α -リノレン酸と n -6 系必須脂肪酸であるリノール酸のエネルギー産生効率を比較するため、 ^{14}C -標識脂肪酸を用い、生体内での酸化率をラットで検討した。

実験方法

1. 実験動物および投与方法

動物は7週齢のSD系雄性ラットを用いた。実験群として α -リノレン酸を投与する ALN 群およびリノール酸を投与する LA 群を設け、各群6例とした。

標識体には 1-[^{14}C]- α -リノレン酸および 1-[^{14}C]-リノール酸(第一化学㈱)を用い、投与輸液の放射能が 0.56 MBq/10 ml となるように、それぞれ 10% 脂肪乳剤で希釈した。なお、 α -リノレン酸の希釈はそれを主成分とするエゴマ油を乳化したエゴマ油脂肪乳剤を、リノール酸の希釈はダイズ油脂肪乳剤を用いて行った。

体重 231.1~244.8 g のラットを用い、非絶食状態でベントバルビタールナトリウム麻酔下にて中心静脈にカテーテルを留置し、生理食塩水を 1 ml/h で 24 時間持続注入した。その後、ラットを速やかにガラス製代謝ケージ(杉山元医理化)に収容し、各被験輸液に切り換えて 3.33 ml/kg/h で 3 時間持続投与した。なお、絶食期間中はラットに水を自由に摂取させた。また、ラットの呼吸には 30% 水酸化ナトリウム水溶液で脱炭酸、無水塩化カルシウムで除湿した空気を与え、代謝ケージ内の空気流量は 300 ml/min とした。

2. 呼吸中 $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量

ラットの呼吸 ($^{14}\text{CO}_2$) は、炭酸ガス捕集液(モノエタノールアミン-メタノール (1:3) 混合液) 約 500 ml に捕集した。呼吸中 $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量は、捕集液から一定量を採取し、シンチレーターを添加して液体シンチレーションカウンターでその放射能を測定した。

3. 組織中 ^{14}C 含量

投与開始後 24 時間に血液、肝、脾、精巣上体脂肪および腓腹筋を採取した。血漿中 ^{14}C 含量は、血液を遠心分離して得られた血漿にシンチレーターを添加して放射能を測定した。他の組織中 ^{14}C 含量は、組織を風乾して燃焼処理し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集してその放射能を測定した。

* 〒107 東京都港区赤坂 2-17-51

** 〒520-23 滋賀県野洲郡野洲町大篠原 1658

4. 統計処理

すべての結果は投与量に対する百分率を算出し、平均値±標準偏差で表示した。また、統計処理は Student の *t* 検定を用い、有意水準 5% 未満を有意と判断した。

実験結果

1. 呼吸中 $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量

Fig. 1 に被験輸液投与後の呼吸中への $^{14}\text{CO}_2$ 累積排泄量を示す。

呼吸中 $^{14}\text{CO}_2$ の累積回収率は、投与開始後 3 時間目から ALN 群が LA 群に比べて有意に高い値を示した。また、投与した放射能の 24 時間までの累積排泄量は、投与量に対して ALN 群が $66.7 \pm 10.6\%$ 、LA 群が $49.3 \pm 5.6\%$ であり、ALN 群が有意に高い値を示した。

2. 組織中 ^{14}C 含量

Fig. 2 に投与 24 時間後の組織中 ^{14}C 含量を示す。

投与後 24 時間での肝中放射能は、投与量に対して ALN 群が約 1% であり、LA 群の約 2% に比べて有意に低い値を示した。また、精巣上体脂肪中の放射能は ALN 群が LA 群に比べて有意に低い値を示したが、それらの値は投与量に対して 0.5% 以下であった。一方、血漿、脾および腓腹筋中の放射能は群間で差がなく、いずれも投与量に対して 0.1% 以下であった。

Fig. 1. Cumulative excretion of expired $^{14}\text{CO}_2$ after infusion of test solutions in rats.

ALN, α -linolenic acid; LA, linoleic acid. Each point represents the mean $\pm$ SD. $\bullet$, ALN group ($n=6$); $\circ$, LA group ($n=6$). * and **, Significantly different from the LA group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively. 1- ^{14}C - α -linolenic acid and 1- ^{14}C -linoleic acid were mixed with 10% lipid emulsion (0.56 MBq/10 ml), and infused at a rate of 3.33 ml/kg/h for 3 h.

考察

脂肪酸はミトコンドリア内で β 酸化を受けた後に TCA サイクルで ATP 産生に使われるが、その酸化率は鎖長および不飽和度の増加とともに低下すると考えられている。しかし、ラットを用いた *in vivo* および *in vitro* 試験から、 α -リノレン酸はリノール酸よりも CO_2 産生量が多いことが報告^{1)~3)} されており、不飽和度のみで脂肪酸の酸化率を論じることはできない。本実験において、標識脂肪酸投与後の呼吸中への $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量は、ALN 群が LA 群に比べて投与終了直後から有意に高い値を示したことから、 α -リノレン酸はリノール酸に比べて生体内酸化を受けやすいことが確認された。脂肪酸がミトコンドリア内に運搬されるには、ミトコンドリア外膜でアシル CoA 合成酵素の作用を受けてアシル CoA となり、次いでミトコンドリア内膜のカルニチンアシルトランスフェラーゼ-I (CPT-I) によりアシルカルニチンに転換されなければならない。Clouet ら³⁾ および Gavino ら⁴⁾ は、ラット肝ミトコンドリアを用いた *in vitro* 試験から、脂肪酸からのアシルカルニチン生成速度は α -リノレン酸がリノール酸に比べて高いことを示した。また、Bandyopadhyay ら⁵⁾ は CPT-I が α -リノレン酸に高い親和性を示すことを報告している。これらのことから、おそらく投与された α -リノレン酸は速やかにミトコンドリア膜上で活性化され、CPT-I を介してミトコンドリア内に運搬され、高い酸化率を示したと考えられる。一方、投与開始後 24 時間の組織中放射能は、両群とも投与量に対し肝で 1~2%、他の臓器では 0.5% 以下と低い値を示したことから、投与された脂肪酸は速やかに代謝されたことが推察される。また、ALN 群では LA 群に比べ肝および精巣上体脂肪での放射能が有意に低いことか

Fig. 2. ^{14}C content in the tissue at 24 h after infusion of test solutions in rats.

Each column represents the mean $\pm$ SD. $\blacksquare$, ALN group ($n=5$); $\square$, LA group ($n=6$). *: Significantly different at $p < 0.05$.

ら、投与された α -リノレン酸はその多くがエネルギーとして利用されたために組織での残存が少なかったと考えられた。

以上のことから、 α -リノレン酸はリノール酸に比べてエネルギー源として燃焼されやすく、静脈栄養時のエネルギー基質として α -リノレン酸を多く含む油脂(たとえばエゴマ油など)は有効であると考えられた。

要 約

生体内における α -リノレン酸とリノール酸のエネルギー産生効率を比較するため、7週齢のSD系雄性ラットを用いて 1- ^{14}C - α -リノレン酸および 1- ^{14}C -リノール酸を静脈内投与し、呼気中への $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量を測定した。

1) 呼気中への $^{14}\text{CO}_2$ 排泄量は、 α -リノレン酸がリノール酸に比べて有意に高い値を示した。

2) 投与後の肝および精巢上体脂肪における放射能残

存量は、 α -リノレン酸がリノール酸に比べて有意に低い値を示した。

以上の結果、静脈栄養時において α -リノレン酸は生体内でエネルギー源として利用されやすいことが明らかとなった。

文 献

- 1) Crawford, M.A. : Polyunsaturated Fatty Acids and Eicosanoids (Lands, W.E.M., ed.), 270 (1989), American Oil Chemist Society (Champaign, IL)
- 2) Leyton, J., Drury, P.J. and Crawford, M.A. : *Br. J. Nutr.*, **57**, 383 (1987)
- 3) Clouet, P., Niot, I. and Bezard, J. : *Biochem. Med.*, **263**, 867 (1989)
- 4) Gavino, G.R. and Gavino, V.C. : *Lipids*, **26**, 266 (1991)
- 5) Bandyopadhyay, G.K., Dutta, J. and Ghosh, S. : *Lipids*, **17**, 733 (1982)

(1996年6月10日受理)