実験的動脈硬化症におよぼす 食餌性脂質および蛋白質の影響

長崎大学医学部高岡内科（指導 高岡善人教授）

吉 岡 正 人

THE EFFECT OF DIETARY FAT AND PROTEIN ON EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS

Masato YOSHIOKA

The First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine
(Director: Prof. Yoshito Takaoka)

概要 食餌性脂質および蛋白質が、血清の脂質代謝に及ぼす影響を家兎を用いて実験した。家兎は高脂肪食群、低脂肪食群の2群に分け、おのおのにコレステロール(コと略)、塩化コリンを負荷し、蛋白質の投与量によりさらに三段階に分け、2カ月間飼育した。その結果、血清コ、総脂質、総リンは高脂肪、低脂肪食のいずれの群においても、蛋白投与量が多い群ほど高値であつたが、中性脂肪のみは蛋白投与量の少ない群ほど高値であつた。ガスクロマトグラフィーによる血清脂酸分析では、両脂肪食群ともパルミチン酸の増加、ステアリン酸の減少がみられ、その他の脂酸は食餌組成によりいろいろに変化した。肝の脂酸分析は血清に類似していたが、大動脈壁ではパルミトオレイン酸の割合が増加した。実験成績より、動脈硬化症発生には脂質、蛋白質ともに重要であり、そのいずれのバランスがくずれても、脂質代謝には異常な影響があらわれ、動脈硬化症を起こす大きな要因となることが推定された。

緒 言

近年、脳卒中、冠疾患など動脈硬化性疾患が悪性腫瘍と並んで本邦でも最大の国民病となつている。1908年Ignatowskyが家兎に動物性脂肪食を投与して実験的粥状硬化症を作つて以来、Starokadowskie, Chalataro Stuckyが多量の卵黄、牛乳食などにより家兎大動脈にアテローム変性を作り、さらに1913年Anitschkowらは家兎に過コレステロール（以下コと略）食を与えて粥状硬化症を作ること成功した。これら一連の実験により、動脈硬化症の発生には食餌因子が大きく関与することが考えられ、以後、疫学的にも実験的にもこれら

にかんする数多くの研究がなされてきた。

従来、動脈硬化症発生に及ぼす食餌性因子として取上げられてきたものは専ら脂質の面であつた。しかし脂質摂取量の多い欧米はさておき、脂質摂取量のはるかに少ない我国、特に農村においても動脈硬化症は決して少なくない。このことから考えれば、脂質以外の食餌因子も関連していることは十分にうかがわれるが、この点に注目して当教室の片山¹⁾はラットを用いて食餌蛋白の実験的動脈硬化症発生に及ぼす影響を検討した。その成績によると、血清総コ、リン脂質、総脂酸などは高脂肪標準蛋白食群では上昇が軽度であつたが、高脂肪低蛋白食群では著明に増加し、高脂肪高蛋白食群がこれに続いた。体重は高脂肪標準蛋

〔昭和46年7月16日受稿〕

白食または高脂肪高蛋白食を与えた2群では、高脂肪低蛋白食を与えた群に較べ明らかに増加が著明であり、かつ前二者の間では有意の差を認めなかった。同様の現象は血清総蛋白量についてもみられた。

このようなことから、片山は動脈硬化症の発生には脂質のほか、蛋白質の果たす役割が強調されねばならず、蛋白質量は過少、過剰の両極端共に脂質代謝上、動脈硬化性変化を促進すると結論している。

以上のことから、摂取蛋白量の著明な不均衡が脂質代謝に影響を与え、動脈硬化促進的(atherogenic)に働くであろうことは理解されるが、著者はその際惹起される脂質代謝の異常をさらに追求する目的で、血中脂酸構成および大動脈壁・肝組織内の脂酸構成比などにつき検討した。また動物にはコおよび塩化コリン負荷家兎を用いたが、同時に脂肪のimbalanceによる影響を検討する意味で、高脂肪食群のみならず低脂肪食群についても検討した。

実験材料ならびに飼育法

体重約2kgの雄性家兎を1羽ずつ金属性ケージに入れ、それぞれに実験食、標準食(対照群)を与え、食餌摂取量をチェックした。水はad libitumに与え、約2カ月間飼育した。

実験方法

1. 実験計画

I. コレステロール負荷高脂肪食実験(表1)

体重約2kgの雄性家兎40羽を実験群30羽、対照群10羽に分けた。対照群には1日当り蛋白質10g、炭水化物38g、脂肪4g、塩類2.4g、ビタミン類を与え、総カロリーを228Calとした。これに対し実験群は一様に8.0g(17.4%)の高脂

表1. コレステロール負荷高脂肪食群の食餌組成

1羽当り1日分							
	蛋白質 g(%)	炭水化物 g(%)	脂肪 g(%)	塩類 g	コレステロール g	塩化コリン g	Cal.
高脂肪 低蛋白	4.0(9)	34.0(74)	8.0(17)	2.4	1.0	0.5	224
標準蛋白	12.0(26)	26.0(57)	8.0(17)	2.4	1.0	0.5	224
高脂肪 高蛋白	24.0(52)	14.0(30)	8.0(18)	2.4	1.0	0.5	224
対照	10.0(19)	38.0(74)	4.0(7)	2.4	/	/	228

表2. コレステロール負荷低脂肪食群の食餌組成

1羽当り1日分							
	蛋白質 g(%)	炭水化物 g(%)	脂肪 g(%)	塩類 g	コレステロール g	塩化コリン g	Cal.
低脂肪 低蛋白	4.8(8)	53.4(89)	1.8(3)	3.5	1.0	0.4	250
標準蛋白	14.4(24)	43.8(73)	1.8(3)	3.5	1.0	0.4	250
高脂肪 高蛋白	28.8(48)	29.4(49)	1.8(3)	3.5	1.0	0.4	250
対照	10.0(19)	38.0(74)	4.0(7)	3.5	/	/	228

肪を与え、コレステロール1.0g、塩化コリン0.5gを負荷し、塩類、ビタミン類を与え、さらに食餌中の蛋白質を高蛋白食群24g(52.2%)、標準蛋白食群12g(26.1%)、低蛋白食群4g(8.7%)とし、残りを炭水化物で補つて1日総カロリーを224Calとした。実験群、対照群ともに脂肪はコレステロール型動脈硬化症を作るためラノリンを用い、蛋白質は脱脂大豆とミルクカゼインを4:1の割合に混合して与え、炭水化物はコーンスターチと蔗糖を1:1の割合で与えた。塩類はMcCullum塩、ビタミン類はvit. A 1800 IU, vit. B₁ 0.7mg, vit. B₂ 1.1mg, vit. B₆ 0.7mg, vit. C 27.0mg, vit. D₂ 180 IU, ニコチン酸アミド7.0mgを与えた。

以上の食餌成分をよく混合し、塊状として与え、水はad libitumとした。

II. コレステロール負荷低脂肪食実験(表2)

体重約2kgの雄性家兎40羽を実験群30羽、対照群10羽に分け、対照群は高脂肪食実験の場合と同条件とし一日総カロリーを約228Calとした。これに対し実験群は一様に1.8g(3%)の比較的低脂肪を与え、さらにコレステロール1.0g、塩化コリン0.4gを負荷し、塩類、ビタミン類を与え、さらに食餌中の蛋白質を高蛋白食群28.8g(48%)、標準蛋白食群14.4g(24%)、低蛋白食群4.8g(8%)とし残りを炭水化物で補つて一日総カロリーを約250Calとした。蛋白質、脂肪、炭水化物の種類および配合割合や塩類およびビタミン類の投与量、水の与え方などは高脂肪食実験の場合と全く同条件にした。

2. 測定方法

前記の食餌で約2カ月間飼育後、24時間絶食し、ネンプターで軽度麻酔したのち開胸し、上

および下大静脈より採血(ヘパリン使用せず)し、さらに大動脈、肝を摘出し標本とした。生化学的検査は次のように行なつた。

- 1) 血清総蛋白量：日立屈折蛋白計で測定。
  - 2) 血清総コレステロール定量：Zak-Henly法。
  - 3) 血清中性脂肪(トリグリセライド)定量：Van Handel法。
  - 4) 血清総磷定量：過塩素酸灰化法Allen変法。
  - 5) 血清総脂質定量：de la Hueragaの比濁法。
  - 6) 血清脂酸分析：ガスクロマトグラフ法。炭素数12~20の高級脂肪酸の変化をみる目的で脂酸をメチル化し、ガスクロマトグラフで脂酸分析を行ない、その値を百分比であらわした。
- 脂酸分析の方法は血清の除蛋白および脂質の抽出をFolch法²⁾、脂酸のメチルエステル化をStoffel法³⁾で行ない、ガスクロマトグラフは島津GC-3A型を使用した。カラムは直径7mm、長さ2mのコイル状ステンレス製、固定相には1,4-butanediol succinateを使用。気相はヘリウムガスでカラム入口圧3kg/cm²、流量150ml/min、カラム温度200℃、試料室温度240℃、検出器は水素炎イオン化検出器でsense 10⁸ MΩ, range 0.8Vの条件で行なつた。エステル化した脂酸の溶媒にはヘキサンを使用した。
- 7) 大動脈壁・肝の脂酸分析：標本採取後、

表3. コレステロール 負荷高脂肪食群の血清蛋白および脂質値

	総蛋白 g/dl	総脂質 mg/dl	コレステロール mg/dl	総リン mg/dl	中性脂肪 mg/dl
高脂肪					
低蛋白	4.85±0.26	614.5±188.9	139.0±34.0	53.7±13.5	70.4±15.4
標準蛋白	6.57±0.97	1421.0±359.0	690.0±56.0	69.4±13.9	48.8±8.6
高蛋白	7.00±0.17	3148.0±458.0	1249.0±201.0	102.4±28.9	22.3±4.2
対照	5.10±0.23	438.0±45.4	57.0±6.6	26.9±4.1	31.9±8.1

表4. コレステロール 負荷低脂肪食群の血清蛋白および脂質値

	総蛋白 g/dl	総脂質 mg/dl	コレステロール mg/dl	総リン mg/dl	中性脂肪 mg/dl
低脂肪					
低蛋白	7.34±0.81	1791.0±552.9	621.5±160.3	78.6±13.5	197.7±56.8
標準蛋白	7.55±1.27	2100.4±588.4	768.2±161.4	80.8±17.2	112.5±37.0
高蛋白	7.26±1.29	3015.5±517.8	1078.1±287.8	108.7±35.9	45.9±15.1
対照	5.87±1.44	438.4±125.1	53.5±7.8	27.6±9.3	42.4±14.1

血液を十分に落し直ちにドライアイスで凍結し、可及的早急にホモジナイズし、Folch法にて除蛋白および脂質の抽出を行ない、以下血清の場合と同じ方法でエステル化し、同条件でガスクロマトグラフにかけ分析し、その値を百分比であらわした。

実験成績

(1) 血清総蛋白量

血清総蛋白量は表3および表4の如くであるが、高脂肪食実験の際の対照群の成績が5.10±0.23g/dl、低脂肪食群の際の対照群が5.87±1.44g/dlと正常にしてはやや低い値であつた。またコレステロール(以下コと略)負荷高脂肪食群の血清総蛋白量は低蛋白食群では平均4.85±0.26g/dlと低値であつたが、標準蛋白食群は6.57±0.97g/dl、高蛋白食群は7.00±0.17g/dlと食餌中の蛋白質が多い群ほど高値を示した。これに対してコ負荷低脂肪食群では低蛋白食群7.34±0.81g/dl、標準蛋白食群7.55±1.27g/dl、高蛋白食群7.26±1.29g/dlと実験群はいずれも類似の血清総蛋白量を示し、3群の間に有意の差は認めなかつたが、対照群よりはいずれも高値であつた。すなわち、高脂肪食群では食餌中の蛋白量が血清総蛋白量に影響を及ぼすのに対し、低脂肪食群ではこのような関係はみられなかつた。

(2) 血清総脂質

血清総脂質にかんしてはコ負荷高脂肪食群、コ負荷低脂肪食群ともに摂取蛋白量の増加に伴い、血清総脂質も増加する傾向を認めた。しかし高脂肪食群と低脂肪食群とを比較してみると、血清総脂質は高蛋白食の状態では低脂肪食群3015.5±517.8mg/dl、高脂肪食群3148.0±458.0mg/dlと両者の間に有意の差はみられなかつたのに対し、標準および低蛋白食の状態では高脂肪食群に比べていずれも低脂肪食群の方が高値となり、脂肪の影響がみられた。その傾向は低蛋白食群で一層著明であつた。

(3) 血清総コレステロール

血清総コについても総脂質と全く同様な傾

向がみられた。すなわち、実験群の α 値は高脂肪負荷群、低脂肪負荷群とも対照群より2~20倍高値であつた。また高脂肪、低脂肪負荷群とも食餌中の蛋白質の多い群ほど血清 α 値は高値であるが、細部についてみると次のような特徴がある。

まず高蛋白食群についてみると、高脂肪食群では 1249.0 ± 201.0 mg/dl、低脂肪食群では 1078.1 ± 287.8 mg/dlと血清 α 値は食餌中脂肪量の多い方がやや高い傾向にあるが、標準蛋白、低蛋白食群のように食餌中の蛋白質量が比較的少ない群では低脂肪負荷群の方が高脂肪負荷群よりも高値であつた。

(4) 血清総リン

血清総リンは高脂肪、低脂肪食群とも実験群はいずれも対照群より2~4倍の高値を示したが、全体的にみて総脂質や α とほぼ同様の傾向がみられ、高蛋白食群においては高脂肪負荷群 102.4 ± 28.9 mg/dl、低脂肪負荷群 108.7 ± 35.9 mg/dlと両者の間に有意の差がみられなかつた。これに対し標準蛋白や低蛋白食群では脂肪投与量の少ない低脂肪食群の方が高値を示した。すなわち、総脂質、 α 、総リンの3者は血清中では大体同じような傾向を示した。

(5) 血清中性脂肪

血清中性脂肪(トリグリセライド)は総脂質、 α 、総リンに較べると逆の傾向がみられ、全体的に α 負荷高脂肪食群よりも、 α 負荷低脂肪食群の方が約2倍の高値を示すとともに、両群とも蛋白質投与が少ないほどその値が高く、低脂肪低蛋白食群が 197.7 ± 56.8 mg/dlと最高値であつた。すなわち、高脂肪食群では高蛋白食群 22.3 ± 4.2 mg/dl、標準蛋白食群 48.8 ± 8.6 mg/dl、低蛋白食群 70.4 ± 15.4 mg/dl、また一方、低脂肪食群では高蛋白食群 45.9 ± 15.1 mg/dl、標準蛋白食群 112.5 ± 37.0 mg/dl、低蛋白食群 197.7 ± 56.8 mg/dlといずれの実験群においても、蛋白質投与量の少ない群ほど血清中性脂肪は高値を示した。このことは α や総脂質などが、蛋白質投与量の多い群ほど高値であつた成績とは逆の結果であつた。

表5. 血清脂酸構成比(%)

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
高脂肪							
低蛋白	2.1 ± 0.3	29.9 ± 2.8	3.9 ± 1.0	16.4 ± 1.7	19.0 ± 0.7	23.3 ± 2.6	1.2
標準蛋白	1.9 ± 1.3	31.0 ± 4.5	5.1 ± 1.6	11.0 ± 3.4	22.2 ± 4.6	22.6 ± 8.1	1.0
低蛋白	1.0 ± 0.2	28.4 ± 4.8	4.0 ± 0.9	12.5 ± 2.6	17.8 ± 3.3	31.8 ± 4.4	1.9
対照	1.0 ± 0.4	25.0 ± 2.6	4.8 ± 0.9	14.3 ± 4.5	32.6 ± 3.0	21.5 ± 3.0	0.7

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
低脂肪							
低蛋白	1.5 ± 0.9	40.3 ± 6.1	8.1 ± 2.9	5.1 ± 1.4	36.7 ± 4.4	7.7 ± 3.4	0.2
標準蛋白	0.9 ± 0.5	36.6 ± 4.2	7.6 ± 0.9	5.5 ± 1.0	40.6 ± 4.3	8.4 ± 2.2	0.2
高蛋白	0.5 ± 0.3	36.2 ± 4.5	4.8 ± 1.4	10.7 ± 2.1	24.1 ± 4.2	23.5 ± 3.5	1.0
対照	1.2 ± 0.2	28.0 ± 1.7	5.9 ± 1.5	17.4 ± 1.9	29.7 ± 4.5	17.7 ± 5.3	0.6

表6. 肝脂酸構成比(%)

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
高脂肪							
低蛋白	1.8 ± 0.8	20.7 ± 1.2	5.4 ± 0.4	9.6 ± 2.0	29.0 ± 2.9	20.3 ± 1.2	0.7
標準蛋白	0.6 ± 0.2	25.1 ± 2.3	2.8 ± 0.3	7.8 ± 1.1	17.3 ± 2.0	31.4 ± 2.2	1.8
高蛋白	2.2 ± 0.8	22.2 ± 2.8	5.9 ± 0.9	8.4 ± 0.8	19.8 ± 0.8	25.6 ± 0.8	1.1
対照	0.1 ± 0.0	18.9 ± 1.5	3.9 ± 0.6	9.8 ± 1.8	29.0 ± 3.5	32.3 ± 3.3	1.1

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
低脂肪							
低蛋白	1.0 ± 0.4	31.0 ± 3.0	7.1 ± 2.8	11.2 ± 1.5	40.6 ± 5.3	9.3 ± 3.0	0.2
標準蛋白	0.8 ± 0.2	31.1 ± 3.5	5.8 ± 2.2	12.2 ± 3.8	37.1 ± 4.3	13.2 ± 4.0	0.4
高蛋白	0.4 ± 0.1	33.6 ± 2.0	2.6 ± 0.7	16.3 ± 4.3	21.9 ± 6.4	24.9 ± 4.3	1.1
対照	0.6 ± 0.3	20.1 ± 1.1	3.3 ± 0.6	13.5 ± 2.6	34.6 ± 6.2	27.7 ± 3.1	0.8

表7. 大動脈壁脂酸構成比(%)

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
高脂肪							
低蛋白	3.9 ± 0.8	34.8 ± 3.4	8.2 ± 2.6	6.5 ± 0.2	20.3 ± 1.6	11.5 ± 1.7	0.6
標準蛋白	2.7 ± 1.0	28.9 ± 3.5	5.2 ± 1.2	7.9 ± 0.6	17.8 ± 2.2	20.9 ± 0.7	1.2
高蛋白	4.1 ± 0.2	22.4 ± 2.3	6.8 ± 1.3	9.1 ± 0.2	16.7 ± 3.3	19.8 ± 4.7	1.2
対照	2.1 ± 1.0	32.8 ± 3.1	4.7 ± 0.5	10.8 ± 1.3	21.8 ± 1.7	24.2 ± 3.1	1.1

	ミリスチン酸 C_{14}	パルミチン酸 C_{16}	パルミトオレイン酸 $C_{18:1}$	ステアリン酸 C_{18}	オレイン酸 $C_{18:1}$	リノール酸 $C_{18:2}$	L/O比
低脂肪							
低蛋白	4.0 ± 1.5	43.9 ± 1.2	3.7 ± 0.8	8.3 ± 5.0	23.9 ± 6.4	11.2 ± 4.0	0.5
標準蛋白	4.3 ± 1.2	58.5 ± 6.7	4.5 ± 0.9	5.6 ± 2.3	21.1 ± 2.7	6.0 ± 2.3	0.3
高蛋白	3.5 ± 0.8	50.7 ± 8.6	3.3 ± 1.8	8.4 ± 1.4	19.3 ± 3.2	15.3 ± 4.7	0.8
対照	3.7 ± 0.2	35.9 ± 4.2	4.4 ± 1.2	14.5 ± 1.7	21.7 ± 1.4	17.9 ± 2.6	0.8

以上の実験成績について要約すると、血清中の総脂質や総 α などは高脂肪投与、低脂肪投与のいずれの場合においても高蛋白食群で最高値であり、蛋白質投与量の少ない群ほど低値であつた。しかし低蛋白食群の値そのものは高蛋白食群に比べて、低脂肪投与群では $2/3$ 位まで増加しているのに反し、高脂肪投与群では $1/2 \sim 1/10$ 位までしか増加していない。つまり高脂肪の状態では、低脂肪の状態に比べて増加の割合が軽度であつた。しかし中性脂肪は低脂肪食群の方が高脂肪食群よりも高く、しかも蛋白質投与量の少ないほど、その値が高値である点は注目値する。

(6) 脂酸構成比(表5, 6, 7)

高脂肪食および低脂肪食実験群における血清、肝、大動脈壁の脂酸構成比の結果は表5、表6、表7に総括した。

まず血清についてみると、ミリスチン酸 (C_{14}) は高脂肪食群では低蛋白食群 $2.1 \pm 0.3\%$ 、標準蛋白食群 $1.9 \pm 1.3\%$ といずれも対照群 $1.0 \pm 0.4\%$ の2倍であり、高蛋白食群は $1.0 \pm 0.2\%$ と対照群とはほぼ同値で、食餌蛋白量の少ない群が高い傾向にあり、低蛋白食群で最も高値であつた。

低脂肪食群では全体的に高脂肪食群ほどの上昇はなく、低蛋白食群で対照群よりも高値を示したが、標準蛋白、高蛋白食群はいずれも対照群より低値であつた。

パルミチン酸 (C_{16}) はコ負荷高脂肪食群では低蛋白食群 $29.9 \pm 2.8\%$ 、標準蛋白食群 $31.0 \pm 4.5\%$ 、高蛋白食群 $28.4 \pm 4.8\%$ といずれも対照群の $25.0 \pm 2.6\%$ より高値であつたが、各群の間に有意の差は認められなかつた。コ負荷低脂肪食群でも低蛋白食群 $40.3 \pm 6.1\%$ 、標準蛋白食群 $36.6 \pm 4.2\%$ 、高蛋白食群 $36.2 \pm 4.5\%$ といずれも対照群より高値であつたが、各群の間には有意の差はみられなかつた。

パルミトオレイン酸 ($C_{16:1}$) は高脂肪食群では特に一定の傾向がなく、各群の間に有意の差はみられないが、低脂肪食群では食餌中の蛋白質の少ない群で高値を示す傾向があり、低蛋白食群では $8.1 \pm 2.9\%$ と最も高い値を示した。

ステアリン酸 (C_{18}) についてみると、高脂肪食実験の場合には、低蛋白食群では $16.4 \pm 1.7\%$ と対照群 $14.3 \pm 4.5\%$ よりやや高値であつた以外は、標準蛋白、高蛋白食群とも対照群より低値であつた。これに対し、低脂肪食実験では、低蛋白、標準蛋白、高蛋白食群のいずれも対照群より低値であつたが、その各群の間には一定の関係はみられなかつた。

オレイン酸 ($C_{18:1}$) は高脂肪食実験では対照群の $32.6 \pm 3.0\%$ に比べて、低蛋白食群 $19.0 \pm 0.7\%$ 、標準蛋白食群 $22.2 \pm 4.6\%$ 、高蛋白食群 $17.8 \pm 3.3\%$ といずれも著明に低値であつたが、食餌

中の蛋白質量との間には特に関係はみられなかつた。また低脂肪食実験では対照群の $29.7 \pm 4.5\%$ に比べて高蛋白食群のみは $24.1 \pm 4.2\%$ と低値であつたが、低蛋白、標準蛋白食群はそれぞれ $36.7 \pm 4.4\%$ 、 $40.8 \pm 4.3\%$ と高値であつた。

リノール酸 ($C_{18:2}$) は高脂肪食実験では、低蛋白食群 $23.3 \pm 2.6\%$ 、標準蛋白食群 $22.6 \pm 8.1\%$ で対照群 $21.5 \pm 3.0\%$ とほぼ同値であつたが、高蛋白食群は $31.8 \pm 4.4\%$ とやや高値を示した。低脂肪食実験では、低蛋白食群は $7.7 \pm 3.4\%$ 、標準蛋白食群 $8.4 \pm 2.2\%$ とほぼ同等の値で、対照群 $17.7 \pm 5.3\%$ よりも低値であつたが、高蛋白食群は $23.5 \pm 3.5\%$ とかなり高値を示した。

ここで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、高脂肪食実験群では対照群の0.7に対して低蛋白食群1.2、標準蛋白食群1.0、高蛋白食群1.8といずれも高く、特に高蛋白食群は高値であつた。これに対して低脂肪食実験群のL/O比は低蛋白食群0.2、標準蛋白食群0.2と、いずれも対照群の0.6より低値であるが、高蛋白食群のみは1.0と高値であつた。

次に肝組織の脂酸構成比を血清と比較すると、対照群および各実験群ともに一般にミリスチン酸 (C_{14})、パルミチン酸 (C_{16}) がやや少ない傾向にあり、パルミトオレイン酸 ($C_{16:1}$) ははつきりした傾向がつかめなかつた。

ステアリン酸 (C_{18}) は全実験群を通じて対照群よりやや低値であつたが、特別の傾向は認めなかつた。

オレイン酸 ($C_{18:1}$) は高脂肪低蛋白食群で $29.0 \pm 2.9\%$ と高値を示した他は、高脂肪、低脂肪食群ともに血清の場合とほぼ似た割合を示した。

リノール酸 ($C_{18:2}$) は高脂肪食実験では、高蛋白食群 $25.6 \pm 0.8\%$ 、標準蛋白食群 $31.4 \pm 2.2\%$ 、低蛋白食群 $20.3 \pm 1.2\%$ 、対照群 $32.3 \pm 3.3\%$ 、低脂肪食実験では高蛋白食群 $24.9 \pm 4.3\%$ 、標準蛋白食群 $13.2 \pm 4.0\%$ 、低蛋白食群 $9.3 \pm 3.0\%$ 、対照群 $27.7 \pm 3.1\%$ と全般的に血清の場合と同様

な傾向がみられたが、食餌中の蛋白量との間には一定の関係はみられなかつた。

すなわち、全体としてみると肝組織の脂酸構成は血清の脂酸構成に比較的類似しているが、ミリスチン酸、パルミチン酸など若干の相違点もみられた。

最後に大動脈壁の脂酸構成比についてみると、血清、肝組織の脂酸構成比とはやや違った趣きがみられた。すなわち、大動脈壁の脂酸構成比で特徴ある点は、対照群、実験群ともにパルミチン酸の占める割合がかなり著明に高いことである。例えば対照群をみて32.8±3.1%、35.9±4.2%と血清や肝の対照群パルミチン酸に比べ高値である。全体的にみると、特にコ負荷低脂肪食実験の際の大動脈壁脂酸構成中のパルミチン酸の占める割合の増加が著しく、低蛋白食群43.9±1.2%、標準蛋白食群58.5±6.7%、高蛋白食群50.7±9.6%と脂酸構成の約半分はパルミチン酸となつている。

ミリスチン酸も血清や肝組織の脂酸構成に比較すると、その割合は全般的に高い傾向にあり、特にパルミチン酸同様、コ負荷低脂肪食においてその割合が高く、対照群 3.7±0.2%、低蛋白食群 4.0±1.5%、標準蛋白食群 4.3±1.2%、高蛋白食群 3.5±0.8%であつた。

これに対してパルミトオレイン酸、ステアリン酸は、血清や肝組織の場合と同じような傾向であつた。

オレイン酸は高脂肪、低脂肪食群ともに血清の場合よりもやや低値を示した。その傾向は低脂肪食実験では、低蛋白食群23.9±6.4%、標準蛋白食群21.1±2.7%、高蛋白食群19.3±3.2%と高脂肪食実験にくらべより一層著明であつた。

最後にリノール酸について検討してみると、全般的に大動脈壁中のリノール酸は高脂肪食実験の場合には、血清や肝組織の脂酸構成中のリノール酸百分率より低い傾向がみられたが、低脂肪食実験ではまちまちで一定の傾向がみられなかつた。また血清や肝組織の場合には、高脂肪食実験群の

表8. コレステロール負荷高脂肪食実験の成績と比較した場合のコレステロール負荷低脂肪食実験成績の動向(ガスクロ)

	C ₂₄	C ₁₈	C _{18:1}	C ₁₈	C _{18:1}	C _{18:2}
血清	↓	↑	↑	↓	↑	↓
肝	≒	↑	≒	↑	↑	↓
大動脈	↑	↑	≒	≒	↑	↓

リノール酸の割合は低脂肪食実験群よりかなり高値であつたのに対し、大動脈壁では両実験群のリノール酸百分率平均値はほぼ同程度であつた。

以上、血清、肝組織、大動脈壁のガスクロマトグラフィーによる脂酸分析の結果をのべたが、コ負荷低脂肪食実験の場合の成績を、コ負荷高脂肪食実験の際の成績と比較して要約すると、表8のようになる。すなわち高脂肪食実験の場合の成績と比べると、低脂肪食実験群の成績の特徴はパルミチン酸、オレイン酸の割合が増加し、リノール酸が減少することである。従つて当然L/O比も高脂肪食群の場合よりも小であつた。

考 案

動脈硬化症の発生が食餌と密接な関係を有していることは、古く1908年Ignatowsky以来、多くの研究者により立証されている。しかしその成因にはその他多くの要因が複雑に関与しており、脂質代謝異常(食餌性因子)、遺伝因子、内分泌性因子、精神的因子、局所性因子、血液凝固および線溶系異常、各種毒素に対する血管反応、血管壁の栄養障害などがあげられる⁴⁾。これらを大きく分けて血管壁に一次的变化を求めるものと、血液成分の方を重要視する見方とがあるようである。この中、特に脂質代謝、なかんずくコ代謝について考えてみると、従来、血中コのは大半は食餌中のコに由来すると考えられていたが、現在ではコは主として肝で合成される他⁵⁾、副腎、腸、血管壁でも合成されることがわかっている。従つて実験的には、従来のコ負荷による動脈硬化症作製の他、最近では飽和脂酸負荷により高コ血症、ひいてはatheroma発生を認め⁶⁾、また必須脂酸を欠如した食餌によるatheroma発生の報告⁷⁾もある。

ヒトの場合にはKey, Gofman⁸⁾によれば、1日

0.7gのコ摂取では血中コには影響がなく、コ摂取量よりもむしろ脂肪総摂取量が関係し、食餌中脂肪量と血中コ値は平行関係にあり、また食餌総カロリー量が関係するとのべている。

このように従来の実験的動脈硬化症における食餌因子の検討は、主として脂質を中心としたものであった。しかしまた一方、動脈硬化症に及ぼす蛋白質の影響もかなり早くから検討されており、その最初の報告と思われるものは1920年のNewburg⁹⁾である。実はIgnatowskyがそれよりもかなり以前に動物に大量の蛋白質を与える実験をしているが、彼はそれによりatheroma様変化が認められたという報告だけで、それにかんする蛋白質の影響については、特別の検討はしていない。その後、Jones & Huffman¹⁰⁾は高令ラットを高蛋白食で飼育して高コ血症のおこることを認めた。また安藤¹¹⁾は家兎を、Clarksonはハトを用いて食餌実験をしたところ、いずれも低蛋白食群に比べて高蛋白食群の方が動脈硬化をおこす頻度が高かったと報告している。しかしながらこれと反対の報告もあり、1956年Moyer¹²⁾はラットを高脂肪高コ負荷食で飼育し、蛋白質の投与量をいろいろ変えたところ、蛋白質摂取の多い群ほど血中コは低値であつたし、Schermanもカロリーの半分を動物蛋白で摂取しても、脂肪を摂らなければ血中コは低下するとのべている。またTakenakaらはニワトリで食餌中の蛋白質量を15~35%といろいろ組み合わせて飼育したところ、血中コ、 β -リポ蛋白の増加および大動脈の硬化性病変が最も著明であつたのは、低蛋白食群であつたとのべているが、その際の総カロリーについては特別の考慮を行なっていない。また教室の片山¹³⁾はラットを用い、食餌中の脂質と蛋白質の割合をいろいろ変えて投与し、さらにコや塩化コリンを負荷したが、その結果、高脂肪低蛋白食群で最も強い脂質代謝異常が認められ、高脂肪高蛋白食群がこれに続いた。これらのことから片山¹³⁾は、動脈硬化症の発生には蛋白質、脂肪のいずれも重要な役割を果たしており、その両者の均衡が破れた時に代謝異常がおこると

のべている。

今回、われわれの家兎による実験ではラットとは多少異なる結果が得られたが、その理由としては動物の種の違いや肉食性、草食性の違いなどもあげられよう。また動物は種類によつて実験的に動脈硬化症を作りやすいものと、作りにくいものがある。例えば家兎、ニワトリは前者に属するが、サル、イス、ラットはヒトと同様、食餌性コに対する耐性が強く、実験的動脈硬化症を作りにくい。その理由はサルやイスなどでは血清エステルコレステロール分画中のアラキドン酸の含有率が高いためとされている。Hureperらはサルに1年以上高コ食を負荷してなおかつatheromaを作りえなかつたと報告している。しかしRinehartやGreenbergは同様の実験で、ビタミンB₆を欠乏させるとかなり短期間のうちにatheroma変性をみたと報告している。さらにKritschewskyらは家兎にコを負荷しても高脂肪食では低脂肪食に比べて硬化性変化がおこりにくいことをのべ、その理由として摂取脂肪に含まれる不飽和脂肪酸、殊にリノール酸の影響をあげている。またStillらは脂肪摂取量正常の家兎にコを負荷したところ、血清脂酸構成のうち、リノール酸は対照群に比して上昇し、オレイン酸は逆に減少したことをのべ、後でのべるように著者らの成績と一致する成績を報告している。

動物における実験的動脈硬化症とヒトの動脈硬化症を比較する場合、一般にヒトの動脈硬化症はいわゆる粥状硬化症であり、長年月に亘つて進行してきたものであるため、潰瘍形成、出血、石灰化などの合併症を伴っている。これに対して実験的に作る動物の動脈硬化症は大量のコなどを負荷して短期間の間に作製されるので、高コ血症、atheroma様病変、xanthomaなどを起こすが、潰瘍形成、出血、石灰化などの合併症はほとんど伴わないのが普通である。従つて形態学的にみれば、ヒトと動物の動脈硬化症にはいろいろの相違がみられ、動物実験により得られた成績をそのままヒトに当てはめるにはかなりの問題点がある。

しかしながら脂質代謝という面でみれば、動物実験の成績の積み重ねがヒトの動脈硬化症の根底にある脂質代謝異常の解明に一つの手がかりを与えるであろうことは期待されるところである。また最近では家兎などのコ飼育動物も高コ血症のまま2年以上生存させ得れば、ヒトのatheromaにみられるようないろいろな合併症の発生することがConstantinides¹⁴⁾らによつて報告され、ヒトの動脈硬化症と動物の実験的動脈硬化症との間にも多くの共通点のあることが見出されてきた。このことはまたヒトの進展したatheromaも、もとは単純なfatty streakに端を発しているという事実を証明するものともいえる。

今回、著者が家兎を用いて行なつたコおよび塩化コリン負荷実験は、食餌中の脂質を高脂肪、低脂肪の2種類、蛋白質を高蛋白、標準蛋白、低蛋白の3段階に分け、これらを組み合わせて飼育し、食餌組成の因子が脂質代謝にどのような影響を及ぼすかを検討し、併せて教室の片山¹⁵⁾のラットの成績と比較したものである。

その結果、食餌中蛋白量の相違という点からみれば、コ負荷高脂肪食実験、コ負荷低脂肪食実験のいずれにおいても食餌中の蛋白質が多い群ほど血清中のコ、総脂質、総リンは高値で、高蛋白食群で最高値であつた。

一方、見方を変えて食餌中の脂質量の点から比べてみると、高蛋白食群では血清総コ、総脂質、総リンの値は、高脂肪食群よりも低脂肪食群で低値であるのに対し、標準蛋白や低蛋白食群ではこれらの値はかえつて低脂肪食群で高値を示し、殊に低蛋白食群でその傾向が著明であつた。すなわち、高脂肪低蛋白食よりも低脂肪低蛋白食の状態の方がより異常な脂質代謝を示した。

次に中性脂肪について若干検討してみると、中性脂肪は高脂肪食実験、低脂肪食実験のいずれの場合においても、コ、総脂質、総リンとは逆に、食餌中の蛋白質が少ない群ほど高値を示したが、その理由は今回の著者の実験では、脂質や蛋白質量が少ない群はカロリーの不足を炭水化物で補つ

ているため、低脂肪や低蛋白食群では高炭水化物食となつているためであろう。つまり高炭水化物食によるcarbohydrate induced hyperlipidemiaでは中性脂肪の増加が特徴であるからである²⁰⁾。また中性脂肪の値はコなどとはやや異なり、低脂肪食群では高脂肪食群にくらべ全体的に高値であつた。

このようにしてみると、高脂肪高蛋白、低脂肪低蛋白の両極端は勿論のこと、脂質、蛋白質のいずれが過少、過剰に陥つても脂質代謝の上には異常な影響が現われてくることが認められた。

次に以上のような実験成績の機序につき若干の考察を加えてみた。

もともと低蛋白質という状態は動物にとつてはatherogenicな要因となるものであるが、高脂肪低蛋白食群では食餌中の脂肪(ラノリン中のリノール酸)が過剰なために、過少な蛋白からくるatherogenicな代謝の不均衡をある程度埋合せているものと考えられる。高脂肪高蛋白食群においては、脂肪、蛋白質ともに過剰なため、体内の過剰な脂質がturnoverされず、そのまま血中へ残り、臓器に蓄積されてコや総脂質を上昇させると考えられる。これに対し低脂肪低蛋白食の場合は脂質、蛋白質ともに過少であり、蛋白代謝の不均衡が原因となつて脂質代謝に異常を起こすほか、脂肪過少のためにリノール酸などが減少して、さらに脂質代謝異常に拍車をかけるものと考えられる。

Kritchevsky¹⁹⁾らも家兎にコを負荷した場合の動脈硬化症は、高脂肪よりも低脂肪で強くおこるが、その理由として低脂肪の場合は内因性脂肪が動員されるためとしている。これは内因性脂肪は外因性脂肪にくらべ、不飽和脂肪酸が多いためコと結合し、組織に沈着しやすいからだとのべている。

次に中性脂肪について考えると、今回の実験で血清中性脂肪がコなどとは違つた動きをみせ、低蛋白食群よりも高蛋白食群で低値を示した理由として、先にのべた炭水化物の点の他に、高蛋白食

群では血清脂酸構成比でオレイン酸、ステアリン酸が少ないこととも関連があるように思われる。何故ならば、リノール酸のような不飽和脂肪酸はリン脂質の中に多いのに対し、オレイン酸、ステアリン酸などの脂肪酸は比較的に中性脂肪の中に多いからである。

次に脂酸構成比の面から脂質代謝の動きをみると、1960年Schrade¹⁵⁾は動脈硬化症患者の血清総脂質の脂酸分析を行ない、パルミチン酸、オレイン酸の比率が高く、リノール酸が低く、L/O比が1以下になることを報告したが、本邦でも田中¹⁶⁾、高橋、相沢らにより相次いで同様の報告がなされている。

正常人の血清脂酸分析で最も高い比率を示す脂酸はパルミチン酸とリノール酸で、両者はほぼ同じ割合に存在する。しかしヒトの動脈硬化症においてはリノール酸の著明な減少があり、一方、オレイン酸、パルミチン酸はかなり増加してL/O比の低下がみられる。また田中¹⁶⁾らはリノール酸の比率の低いものは血清コ値が高く、相関がみられたとのべている。動物は種類によつてそれぞれ血清脂酸構成が異なり、例えば家兎ではヒトに較べて一般にパルミチン酸、ステアリン酸百分率が高いので、家兎による実験成績をそのままヒトの場合と比較することは困難であるが、著者の成績では家兎では正常群、実験群ともパルミチン酸とオレイン酸の割合が最も高値であつた。リノール酸は著者の実験では低脂肪食群よりも高脂肪食群で高値であつたが、これには脂肪として投与したラノリン中のリノール酸も関係があると考えられる。またL/O比は高脂肪食、低脂肪食実験群のいずれにおいても、一般に食餌中の蛋白質が少ないもののほど小さい傾向にあり、特に低脂肪低蛋白食群では著明なL/O比の低下を示し、血清脂質の変動と合わせ、ヒトの動脈硬化症に近い脂質代謝異常を示した。またその他、高脂肪食実験群ではリノール酸の上昇、オレイン酸の減少がみられ、Stillらの報告と一致する成績を得た。

次に肝組織、大動脈壁の脂酸構成比についてみ

ると、一般に大動脈壁の脂酸構成ではパルミチン酸の増加がいわれているが、大動脈壁の脂質は血清脂質に比べ、概して不飽和脂肪酸の割合が少ないといわれており¹⁸⁾、そのためパルミチン酸などの飽和脂肪酸が増加するものと思われる。このように血清と肝組織の脂酸構成比は一般に類似するが、肝組織の脂酸構成が大動脈壁のそれと類似するという報告もある。

著者の実験では肝組織の脂酸構成比は血清の場合と類似する結果を得たが、大動脈壁の脂酸構成比では対照群、実験群とも明らかにパルミチン酸の占める割合が高かつた。

結 論

食餌性脂質および蛋白質が血清の脂質代謝に及ぼす影響について検討した。その結果の要約は次のとおりである。

(1) 血清総コ、総脂質、総リンは高脂肪食群、低脂肪食群のいずれにおいても、食餌中の蛋白質の多い群ほど高値で、高蛋白食群で最高値を示した。

(2) 中性脂肪はこれとは反対に、高脂肪食群、低脂肪食群のいずれにおいても、食餌中の蛋白質の少ない群ほど高値で、低蛋白食群で最高値を示した。

(3) 高脂肪食群と低脂肪食群の血清総コ、総脂質、総リンの値を比較すると、高脂肪食群では、食餌中の投与蛋白質量が少ない群ほど、コや総脂質の上昇度は軽度にとどまつた。また低脂肪食群でも同様の傾向はみられたが、各群の間の差は軽度で低蛋白食群においてもなお相当の高値を示した。

(4) 血清脂酸構成比では高脂肪食群、低脂肪食群ともにパルミチン酸の増加、ステアリン酸の減少がみられた。しかしその他の脂酸は、高脂肪食群ではオレイン酸は減少、リノール酸は増加したのに対し、低脂肪食群ではオレイン酸が増加、リノール酸が減少した。

(5) 肝組織、大動脈壁の脂酸構成比は、血清の場合に比べ大差はなかつたが、大動脈壁ではパ

ルミチン酸百分率の著明な上昇が特徴的であった。

従つて以上のすべての結果を総括すると次のようになる。

(6) 動脈硬化症発生には脂質、蛋白質のいずれもその果たす役割は重要であり、高脂肪高蛋白、低脂肪低蛋白の両極端はもちろんのこと、脂質、蛋白質のいずれが過少、過剰に陥つてもバランスがくずれ、脂質代謝に異常な影響があらわれ、動脈硬化症をおこす大きな要因となるものと推定される。

文 献

- 1) 片山知之：実験的動脈硬化症に及ぼす食餌蛋白の影響について，長崎医学会雑誌，38：196，1963。
- 2) Folch, J.: Preparation of lipid extracts from brain tissue, *J. biol. Chem.*, 191: 833, 1951.
- 3) Stoffel, W.F.: Analysis of long chain fatty acids by gas-liquid chromatography, *Anal. Chem.*, 31: 307, 1959. —4) 八杉忠男：実験的動脈硬化症，総合臨床，16：1947，1967。 —5) Gould, R.G.: Lipid metabolism and atherosclerosis, *Amer. J. Med.*, 11: 209, 1951. —6) Lambert, G.F.: Hypercholesterolemia and atherosclerosis induced in rabbits by purified high fat rations devoid of cholesterol, *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 97: 544, 1958. —7) Malmros, H.: Atherosclerosis and deficiency of essential fatty acids, *Lancet*, 2: 749, 1956. —8) Gofman, J.W.: Relation of fat and caloric intake to atherosclerosis, *J. Amer. Dietet. Assoc.*, 30: 317, 1954. —9) Newburg, L. H.: The production of atherosclerosis in rabbits by feeding diets rich in meat, *Arch. Int. Med.*, 26: 653, 1920. —10) Jones, R.J.: Chronic effect of dietary protein on hypercholesterolemia in rat, *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 93: 519, 1956. —11) 安藤宜男：動脈硬化症に関する実験的研究。これに及ぼす数種薬剤の影響，名古屋医学，81：154，1960。 —12) Moyer, A.W.: Dietary protein and serum cholesterol in rats, *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 92: 4, 1956. —13) 片山知之：実験的動脈硬化症に及ぼす食餌たんぱくの影響（第4報），日老医誌，3：Supp. 2, p 29, 1966. —14) Constantinides, P.: Advanced atherosclerosis of the human type in the rabbit, *Circulation*, 22: 677, 1960. —15) Schrade, W.: Gaschromatographische Untersuchungen der Serumfettsäuren des Menschen, *Klin. Wschr.*, 38: 126, 1960. —16) 田中圭：ガスクロマトグラフィーによる動脈硬化患者血漿脂酸構成の研究，日内会誌，50：790，1961。 —17) Swell, L.: Tissue cholesterol ester and triglyceride fatty acid composition of rabbits fed cholesterol diets high and low in linoleic acid, *J. Nutr.*, 76: 429, 1962. —18) Björntorp, P.: Fatty acid composition of lipids of serum and aorta in the chicken on different diets, *J. Atheroscler. Res.*, 3: 72, 1963. —19) Kritschewsky, D.: Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets, *J. Atheroscler. Res.*, 8: 697, 1968. —20) Portman, O.W.: Effect of dietary carbohydrate on experimentally induced hypercholesterolemia and hyperbetalipoproteinemia in rats, *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 91: 321, 1956.