

ラットの血中脂質脂肪酸組成に及ぼす摂取タンパク質の影響

誌名	東海区水産研究所研究報告
ISSN	00408859
著者名	岡崎,恵美子 北島,義範 杉井,麒三郎 佃,信夫
発行元	東海区水産研究所
巻/号	123号
掲載ページ	p. 57-63
発行年月	1987年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ラットの血中脂質脂肪酸組成に及ぼす 摂取タンパク質の影響

岡崎恵美子・北島義範*¹・杉井麒三郎・佃 信夫*²

Effect of Dietary Protein on Fatty Acid Composition of Plasma of Rats

Emiko OKAZAKI, Yoshinori KITAJIMA, Kisaburo SUGII,
and Nobuo TSUKUDA

Abstract : The dietary effect of various protein sources on the fatty acid composition of plasma lipid of rats was studied.

Hypercholesterolemic diets containing 20% casein, defatted sardine meals or gluten were supplied, restrictively, to young male wister strain rats for 21 days. Cholesterol ester (CE), triglyceride (TG), and phospholipid (PL) separated from plasma lipid were analysed quantitatively and subjected to fatty acid (FA) composition analysis. The following results were obtained: Each of the meal or gluten diets remarkably lowered the plasma cholesterol levels of rats compared with the casein diet. The FA pattern of plasma CE varied with protein sources, e.g. oleic acid (C18 : 1) was lower and linoleic (C18 : 2) or arachidonic (C20 : 4) acid was higher in the meal and gluten-fed groups than in casein-fed group (control). This tendency was similar as in the case when the lipid effective in lowering the plasma cholesterol level was fed to rat.

魚油や植物油の摂取は、血中コレステロール（以下 Chol. と略記）を低減させる効果¹⁾があり、また動物体内の脂質成分²⁻⁴⁾、脂肪酸組成⁵⁻⁹⁾にも影響することが知られている。

一方、食餌タンパク質と Chol. 代謝との関係についても近年検討が加えられ、植物性タンパク質^{10,11)}、魚介類タンパク質^{12,13)}の Chol. 低下効果が指摘されているが、詳細は明らかでない。

以上のように、血中 Chol. の代謝には摂取脂質のみならず、摂取タンパク質も関与していると考えられるが、その機構に関しては未だ十分明らかにされておらず、摂取脂質やタンパク質の動物体内における動的変化については今後更に検討すべき問題であると思われる。

このような観点から、著者らの1人は、前報¹⁴⁾において、魚介類有効栄養成分に関する研究の一環として、Chol. 負荷ラットの血中脂質成分に及ぼすタンパク質及び魚油の影響について調べた。その結果、脂質源としてのイワシ油及びタンパク源としての脱脂イワシミールのいずれについても血漿中の Chol., トリグリセリド、リン脂質レベルを低減させる効果のあることが確認された。本報では、前回と同様に脂質源及びタンパク源の異なる餌料でラットを飼育し、ラットの血中脂質の脂肪酸組成に及ぼす影響について調べた。

1987年9月29日受理。東海区水産研究所業績 A第886号。

*¹ 東海大学海洋学部（清水市折戸）

*² Marine Fisheries Research Department, South East Asian Fisheries Development Center (Changi Point, Singapore 1749).

実験方法

供試タンパク質 乳清カゼイン及びグルテン（いずれも和光純薬），及びイワシミールを用いた。イワシミールは前報¹⁾と同様の方法で調製した。これらの一般成分を表1に示した。

表1. カゼイン，イワシミールおよびグルテンの一般成分。(%)

	水分	灰分	タンパク質	脂質
カゼイン	12.0	1.8	84.3	0.6
イワシミール	8.2	3.2	88.1	0.3
グルテン	5.6	1.6	81.5	10.7

供試脂質 配合用の脂質源として，市販のトウモロコシ油，牛脂および新鮮なマイワシから調製したイワシ油²⁾を用いた。供試脂質の脂肪酸組成は表2に示した。

飼育試験 体重約150gのWister系ラット(♂)42匹を3日間標準餌料で予備飼育した後，体重の近似した25匹を選び，5匹ずつ5群に分けた。それぞれ表3に示す餌料を制限食により与え，21日間飼育した。この間の試験餌料摂取量は各群ともラット一匹当たり410gであった。餌料組成は標準群のみ Chol. 無添加とし，他群にはいずれも Chol. 1%，胆汁酸塩 0.2%を添加した。タンパク源，脂質源は対照群ではカゼイン 20%，牛脂 10%とし，ミール群，グルテン群ではカゼインの一部を脱脂イワシミール，グルテンでそれぞれ代替した。一方，標準群，イワシ油群では牛脂の一部を大豆油，イワシ油でそれぞれ代替した。ラットは飼育終了後1日絶食させたのち，エーテル麻酔して開腹し，ヘパリンを用いて腹部大静脈から採血した。血液は遠心分離(20 min, 660×g)して上層の血漿を採取し，分析時まで-40℃にて保管した。

表2. 供試脂質の脂肪酸組成*1 (%)

脂肪酸	トウモロコシ油*2	牛脂	イワシ油
C 14:0		2.9	5.7
C 16:0	11.5	24.7	17.6
C 16:1		3.7	9.3
C 17:0		1.2	1.0
C 17:1			1.5
C 18:0	1.7	19.0	5.4
C 18:1	27.1	41.6	13.2
C 18:2	58.1	3.7	4.7
C 18:3	1.3		1.1
C 20:1			1.6
C 20:4			1.0
C 20:5			15.4
C 22:5			2.3
C 22:6			12.0
飽和酸	13.2	46.6	29.7
モノエン酸	27.1	45.3	25.6
ポリエン酸	59.4	3.7	36.5

*1 1%以下の成分は除外

*2 日本油化学協会：ガスクロデータ小委員会データより抜粋

表 3. 試験餌料の組成. (%)

成分		群	標 準	対 照	ミ ー ル	グルテン	イワシ油
タン パク 源	カゼイン		20	20	—	—	20
	イワシミール		—	—	20	—	—
	グルテン		—	—	—	20	—
脂 質 源	トウモロコシ油		10	—	—	—	—
	牛 脂		—	10	10	10	—
	イワシ油*1		—	—	—	—	10
	α -でん粉		35	35	35	35	35
	グラニュー糖		25	25	25	25	25
	セルローズ		5	4	4	4	4
	ミネラル混合*2		3.6	3.6	3.6	3.6	3.6
	ビタミン混合*2		1	1	1	1	1
	コ リ ン		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	コレステロール		—	1	1	1	1
	胆汁酸塩		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

*1 イワシ油には 0.06% の α -トコフェロールを添加

*2 HARPER, A. E.: J. Nutr., 68, 405(1955)

脂質の抽出と分画 血漿脂質の抽出は、試験群ごとに個体別試料から一定量ずつ採取し、1群5匹分を混合したものを用いた。FOLCH ら¹⁵⁾の方法により脂質を抽出した後、薄層クロマトグラフィー用プレート(Merck, シリカゲル F₂₅₄)により石油エーテル—エーテル—酢酸(80:20:1)の溶媒系で展開し、コレステロールエステル(CE)、トリグリセリド(TG)およびリン脂質(PL)に分画し、各 spot を掻き取って試料脂質を得た。

脂肪酸組成 試料脂質は三フッ化ホウ素メタノール法¹⁶⁾によりメチルエステルとし、島津 GC-8 A (水素炎イオン化検出器付)ガスクロマトグラフ装置および島津 C-R-1 B インテグレーターにより以下の条件で脂肪酸の分析に供した。カラム: 2.6×2,000 mm ガラスカラム, 充填剤: 15% Diethylene-Succinate (担体: クロモソルブ-W 60~80 メッシュ), カラム温度: 185℃, 試料注入部温度: 260℃, 窒素ガス流量: 40 ml/min.

血中脂質成分 総 Chol., 遊離 Chol., HDL-Chol., TG および PL の分析は、前報¹⁰⁾と同様に酵素法による分析用キット試薬を用いて測定した。

結果および考察

血漿脂質成分 血漿中の Chol., TG, PL の値を表 4. に示す。総 Chol. 値は対照群が最高値を示し、Chol. 無負荷の標準群では対照群より遙かに低く、両者間には有意差 ($P < 0.01$) が認められたが、ミール群では標準群の値をさらに下回り、著しい Chol. 低下効果が認められた。またイワシ油群においても同様であった。供試ミール中に脂質は 0.26% 含まれているが、ミール群餌料の脂質含量に換算すると 0.05% となり、イワシ油群におけるそれと比較して遙かに少ないため、Chol. 低下効果に寄与するミール餌料中の有効成分がタンパク質部分であることは容易に推定できる。以上の結果は魚油のみならず魚肉タンパク質も Chol. 低下効果を示すという既報¹²⁻¹⁴⁾の知見をさらに裏付けるものである。なお、グルテン群においても Chol. 値の低減効果が認められたが、グルテン中に脂質を含有しており、グルテン群餌料の脂質含量に換算すると 2% となり、脂質の寄与は無視できない。従って、ここではタンパク質としてのグルテンの Chol. 低下効果についての考察は差し控える。

表 4. ラットの血漿脂質成分.

(mg/dl)

群	コレステロール				トリグリセリド	リン脂質
	総	遊離	HDL	RFI*2		
標準	75.7±10.7*1b	11.2±2.7	60.1±6.6 ^d	0.20 ^d	51.1±12.8	105.4±8.7 ^a
対照	120.8±24.6	14.6±4.2	15.6±4.8	0.86	53.3±19.0	82.1±8.9
ミール	60.3±6.4 ^b	7.2±1.5 ^a	25.4±3.2 ^a	0.58 ^d	43.9±9.9	79.7±2.2
グルテン	78.0±12.6 ^a	10.3±2.2	48.0±9.5 ^b	0.38 ^d	61.2±11.7	109.1±21.3
イワシ油	64.7±8.5 ^b	8.7±1.9	29.9±4.9 ^a	0.54 ^d	58.1±19.3	76.6±7.7

*1 標準偏差

*2 RFI(risk factor index) = (総コレステロール値-HDLコレステロール値)/総コレステロール値

a, b, c, d. 対照群に対する有意差 (P<0.05, 0.01, 0.005, 0.001)

PL, TG については前報¹⁴⁾とは異なり、脂質源やタンパク源による著しい相違は認められなかった。

脂質成分の脂肪酸組成 各脂質成分 (CE, TG, PL) ごとの脂肪酸組成を表 5, 6 に示した。摂取餌料の内容 (脂質源, タンパク源, Chol. 添加の有無) により脂肪酸組成に差が認められた。

まず, CE では飽和酸が少なく (10~18%), 不飽和酸が大半を占めているが, その組成は摂取脂質, タンパク質により大きく変動していた。脂質源の異なる標準群 (コーン油), 対照群 (牛脂), イワシ油群を比較すると, 明らかに脂質源の影響が認められ, それぞれ C_{20:4}, C_{18:1}, C_{20:5} において他群より高い値を示した。一方, タンパク源の異なる対照群 (カゼイン), ミール群, グルテン群についても差が認められ, とくに C_{18:1} および C_{20:4} において顕著であった。すなわち高度不飽和酸の含有比は 12.0~60.2% であり, 変動の幅は著しく大きい。

次に TG では全般に変動がみられた。ただし, 摂取脂質の影響が強く, 摂取タンパク質による影響は少ない。すなわち脂質源として牛脂を与えた対照, ミール, グルテンの各群では C_{18:1} が, 標準群 (コーン油) では C_{18:2} が, イワシ油群では EPA, DHA がそれぞれ多く, CE の場合と同様, 摂取脂質の脂肪酸組成を強く反映しているが, タンパク源の異なる前者 3 群間に顕著な相違はない。

PL では飽和酸が 40~50%, 不飽和酸が 50~60% であり, その組成は各群間に若干の差はあるが, CE, TG と比較して変動の幅は著しく少なかった。ただし, 標準群において EPA, DHA が多く含まれていた理由については不明である。

以上のように, 各脂質成分ごとに摂取餌料の影響の度合は異なっており, 血漿 CE, PL, TG のうち摂取タンパク源の影響が強く反映されるのは血漿 CE の不飽和酸部分であると考えられた。

RFI 値と血漿 CE のポリエン酸 表 4 において血漿総 Chol. の低下が認められたミール, グルテン, イワシ油の各群では HDL-Chol. は対照群よりも高い値を示し, これに伴って動脈硬化性疾患に対する危険予想因子のひとつである RFI 値は対照群よりも有意に低い値となった。Chol. 無添加の標準群では HDL-Chol. 値は最も高く, RFI 値は最も低い。

この RFI 値をラット血液の性状を表すひとつの目安として用い, 血漿 CE の高度不飽和酸含量と対比させてみた。

まず脂質源の異なる 3 群では, RFI 値は標準群 (コーン油) < イワシ油群 < 対照群 (牛脂), 高度不飽和酸含量は標準群 > イワシ油群 > 対照群であり, 両者間には負の相関が認められた。

一方, タンパク源の異なる 3 群では, RFI 値はグルテン群 < ミール群 < 対照群 (カゼイン), 高度不飽和酸含量はグルテン群 > ミール群 > 対照群であり, 同様に負の相関が認められた。これらの結果と, 既報¹⁷⁾の結果とを合わせ, 図 1 に図示した。タンパク源を変化させた場合, 脂質源を変化させた場合のいずれも, 血漿 CE の高度不飽和酸含量と RFI 値との間に密接な関係のあることがわかる。

以上の結果から, Chol. 負荷ラットにタンパク源としてイワシミールを与えると, 血中 Chol. 量が低下す

表 5. 血漿脂質成分の脂肪酸組成.

脂質 区分	群	脂質源	タンパク源	含有量 (mg/100ml)	飽和酸	不飽和酸			EPA + DHA
						(n=1)	(n=2)	(n≥3)	
血漿 CE	標準	コーン油	カゼイン	65	10.0	15.4	10.6	60.2	8.0
	対照	牛脂	カゼイン	106	18.0	62.5	7.2	12.0	0.3
	ミール	〃	イワシミール	53	16.7	44.4	9.1	28.7	1.7
	グルテン	〃	グルテン	67	15.7	29.8	12.1	39.8	0.9
	イワシ油	イワシ油	カゼイン	56	18.0	32.3	8.1	37.8	18.2
血漿 TG	標準	コーン油	カゼイン	51	37.1	31.0	20.1	10.9	2.8
	対照	牛脂	カゼイン	53	39.4	50.7	7.6	—	—
	ミール	〃	イワシミール	44	30.1	45.7	9.8	11.1	6.6
	グルテン	〃	グルテン	61	29.9	59.2	7.8	2.4	0.2
	イワシ油	イワシ油	カゼイン	58	22.8	31.3	7.7	35.9	23.6
血漿 PL	標準	コーン油	カゼイン	105	39.4	24.3	6.3	26.8	15.8
	対照	牛脂	カゼイン	82	44.4	18.8	10.9	23.6	4.0
	ミール	〃	イワシミール	78	50.9	27.6	8.3	12.5	2.8
	グルテン	〃	グルテン	109	45.4	25.9	12.2	15.8	2.8
	イワシ油	イワシ油	カゼイン	77	41.9	24.3	8.8	20.9	14.0

表 6. 血漿 CE の脂肪酸組成.

群	標準	対照	ミール	グルテン	イワシ油
タンパク源	カゼイン	カゼイン	イワシミール	グルテン	カゼイン
脂質源	コーン油	牛脂	牛脂	牛脂	イワシ油
C12:0	0.5	0.3	0.1	—	0.3
C14:0	1.3	0.5	0.6	1.0	1.8
C15:0	0.1	0.1	0.2	1.4	0.2
C16:0	7.1	14.2	13.4	9.1	13.8
C16:1	2.2	12.1	7.7	7.2	9.5
C17:0	0.3	0.9	0.2	2.0	0.2
C18:0	0.7	2.0	2.2	2.2	1.7
C18:1	6.5	50.2	36.6	20.3	22.8
C18:2	10.6	7.2	9.1	12.1	8.1
(C18:3 C20:0)	0.6	0.4	0.3	1.9	0.9
C20:1	6.7	0.2	0.1	2.3	—
C18:4	—	0.1	0.1	4.9	0.5
C20:3	0.1	0.3	0.2	1.6	—
C20:4	50.5	10.9	26.4	30.5	18.3
C20:5	2.2	0.3	0.9	0.9	15.9
C22:5	1.1	—	—	—	—
C22:6	5.8	—	0.8	—	2.3
その他	3.7	0.3	1.1	2.6	3.7

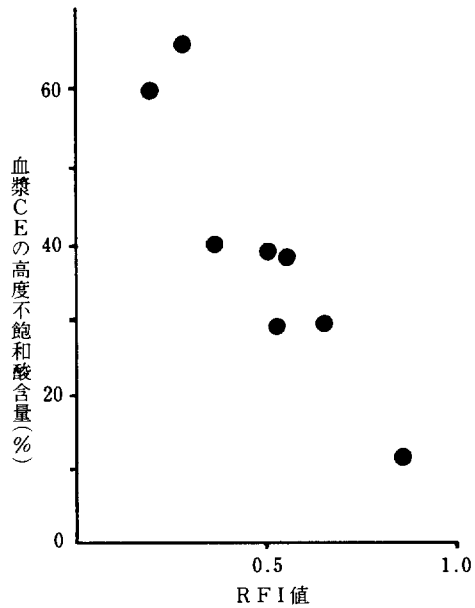


図 1. 血漿 CE の高度不飽和酸含量と RFI 値*

*表 4 脚注参照

るばかりでなく、その脂肪酸組成にも影響することが明らかとなった。これは脂質源として魚油、植物油を与えた場合と同様である。すなわち、脂質とタンパク質とでは血中 Chol. 低下の機構は異なると考えられるが、脂質源として魚油・植物油を、またはタンパク源として魚肉タンパク質を与えた場合のいずれにおいても、血中 Chol. の低下がみられるのと同時に血中 CE の脂肪酸組成が変化し高度不飽和酸含量が増加するという点で、両者間に類似点が認められた。

終りに臨み、ラットの飼育にあたりご協力頂いた東海区水産研究所・荒井君枝技官、山崎貴乃女史に謝意を表す。

文 献

- 1) KAHN, S.G.: A study on the hypocholesterolemic activity of the ethyl esters of the polyunsaturated fatty acids of cod liver oil in the rat. *J. Nutr.*, 83, 262-266 (1964).
- 2) RUITER, A., JONGBLOED, A.W., VAN GENT, C.M., DANSE, L.H.J.C. and METZ, S.H.M.: The influence of dietary mackerel oil on the condition of organs and on blood lipid composition in the young growing pig. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, 2159-2166 (1978).
- 3) CONNOR, W.E., LIN, D.S. and HARRIS, W.B.: A comparison of dietary polyunsaturated ω -6 and ω -3 fatty acids in humans, effects upon plasma lipid, lipoprotein and sterol balance. *Arteriosclerosis* 1, 363 a (1981).
- 4) BRONGEEST-SCHOUTE, H.C., VAN GENT, C.M., LUTEN, J.B. and RUITER, A.: The effect of various intakes of ω -3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 1752-1757 (1981).
- 5) DYERBERG, J., BANG, H.O. and HJORNE, N.: Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 958-966 (1975).
- 6) BANG, H.O., DYERBERG, J. and HJORNE, N.: The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med. Scand.*, 200, 69-73 (1976).
- 7) VON LOSSONCZY, T.O., RUITER, A., BRONGEEST-SCHOUTE, H.C., VAN GENT, C.M. and HERMUS, R.J.J.: The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, 1340-1346 (1978).
- 8) IRITANI, N. and FUJIKAWA, S.: Competitive Incorporation of dietary ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids into the tissue phospholipids in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 28, 621-629 (1982).
- 9) SUZUKI, H., HAYAKAWA, S., TAMURA, S., WADA, S. and WADA, O.: Effect of age on the modification of rat plasma lipids by fish and soybean oil diets. *Biochim. Biophys. Acta.*, 836, 390-393 (1985).
- 10) TERPSTRA, A.H.M., TINTELEN, G.V. and WEST, C.V.: The hypocholesterolemic effect of dietary soy protein in rats. *J. Nutr.*, 112, 810-817 (1982).
- 11) SUGANO, M., TANAKA, K. and IDE, T.: Secretion of cholesterol, triglyceride and apolipoprotein A-1 by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J. Nutr.*, 112, 855-862 (1982).
- 12) 築瀬正明, 荒井君枝: フィッシュミールによるラット血中コレステロールの低下, 東海水研報, No. 115, 7-10 (1985).
- 13) 築瀬正明, 荒井君枝: エタノール処理・イワシミールのラットにおけるコレステロール低下効果, 東海水研報, No. 117, 1-4 (1985).
- 14) 佃 信夫, 荒井君枝: コレステロール負荷ラットの血中脂質成分におよぼす脱脂イワシおよびスケトウダラミールの影響, 東海水研報, No. 120, 61-67 (1986).
- 15) FOLCH, J., LEES, M. and SLOANE-STANLEY, G.H.: A simple method of the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509 (1957).
- 16) 日本油化学協会: 基準油脂分析試験法, 2, 4, 20, 2-77, 脂肪酸メチルエステルの調製方法 (1971).
- 17) 岡崎恵美子, 杉井麒麟, 佃 信夫: ラットの血中および肝臓脂質脂肪酸組成に及ぼす摂取脂質の影響, 昭和61年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 166 (1986).