

## 食餌タンパク質とラット肝臓の脂質(第1報) : 肝臓 脂質に及ぼすタンパク質レベルの影響

前田, 英雄  
九州大学農学部栄養化学教室

菅野, 道廣  
九州大学農学部栄養化学教室

和田, 正太  
九州大学農学部栄養化学教室

<https://doi.org/10.15017/23134>

---

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 27 (3/4), pp.133-138, 1973-07. 九州大学農学部  
バージョン :  
権利関係 :

## 食餌タンパク質とラット肝臓の脂質

### 第1報 肝臓脂質に及ぼすタンパク質レベルの影響

前田 英雄・菅野 道廣・和田 正太

九州大学農学部栄養化学教室

(1972年12月23日受理)

## Dietary Protein and Liver Lipids in Rats

### 1) Effect of the Dietary Protein Levels on Liver Lipids

HIDEO MAEDA, MICHIIHIRO SUGANO  
and MASAFUTO WADA

Laboratory of Nutrition Chemistry, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka

低タンパク食, 必須アミノ酸欠乏あるいはアミノ酸インバランス食などを摂取しているラットでは成長低下に加え肝臓における脂質代謝にも異常がみられる(芦田, 1966; 芦田・吉田, 1961; 吉田, 1972). これらタンパク質の低栄養状態で最もよく知られているのは脂肪肝の発現である. その生成機構に関し, Yoshida & Harper (1960) はスレオニンインバランスの場合には肝臓における脂質合成の増加が原因であることを示している. Lyman ら (1964) および Wilfred & Varma (1969) はイソロイシンおよびスレオニン欠乏ラットで  $2-^{14}\text{C}$ - 酢酸の肝臓脂質への取りこみが著増すること, および肝臓でのリポタンパク質合成は抑制されないことを報告している.

脂質合成は脂肪酸の合成と不飽和化, あるいは脂肪酸のグリセロールとのエステル化など一連の反応が組み合つてなりたつているが, 種々の組織あるいは細胞顆粒成分中の脂質は一定の調節機構のもとにそれぞれ特異的な脂肪酸パターンとグリセリド構造を有している (Hanahan & Blomstrand, 1956; Lands, 1958). したがって脂質代謝の変動は個々の脂肪酸について, また各組織について特異的であることが十分考えられる. 食餌タンパク質の質および量の低下により生ずる脂質成分の変化については現在までこのような観点に立つた知見は十分でないようである (Harada & Mogi, 1966). 本報告は飼料中のカゼイン量が肝臓の

各種脂質の脂肪酸組成に及ぼす影響をしらべることにより, 上述の知見をうるための基礎的データの集積を目的として行なつた.

### 実験方法

1) 実験動物: 動物は Wistar 系の雄ラット (体重 180~205 g) を用い, 個別ケージに入れて室温 22~24°C で飼育した. 投与飼料組成は Table 1 に示す

Table 1. Composition of diets.

Components	Groups		
	8% Casein	20% Casein	32% Casein
Casein	8.0	20.0	32.0
Sucrose	77.85	65.85	53.85
Corn oil <sup>1)</sup>	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture <sup>2)</sup>	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture <sup>2)3)</sup>	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.15	0.15	0.15
Cellulose	4.0	4.0	4.0

- 1) Contains the following percentages of fatty acids; 14: 0, 0.2; 16: 0, 9.6; 16: 1, 0.6; 18: 0, 1.8; 18: 1, 25.6; 18: 2, 61.7; 18: 3, 0.5
- 2) Obtained from Tanabe Amino Acid Research Foundation (according to Harper (1958))
- 3) Diets were supplemented further with Vitamin A, 2400IU; Vitamin D<sub>2</sub>, 200 IU and Vitamin E, 10mg per 100g.

通りでタンパク質レベルによつて 8%, 20% および 32% カゼインの 3 群に分け 16 日間自由摂食させた。

2) 脂質成分の分析法: 動物を断頭屠殺後, 直ちに肝臓を摘出し, Folch ら (1957) の方法に従つて脂質を抽出, 純化した。総脂質は Bragdon の酸化法 (1960), 脂質態リンは Gomori 法 (1942) (リン量を 25 倍してリン脂質量とした), コレステロールは Sperry & Webb 法 (1950) により測定した。トリグリセリドは総脂質よりリン脂質とコレステロールを差し引いて求めた。

3) 脂質成分の分離: 各脂質成分の分離は, シリカゲル G の薄層クロマトグラフィー (TLC) により行なつた。トリグリセリド, コレステロールエステルの分離は Schlierf & Wood (1965), レシチンの分離は Mangold (1961, 1964) に準じた。各脂質成分は, 0.2% 2',7'-ジクロロフルオレッセインエタノール溶液を噴霧し紫外線下で検出同定した。トリグリセリドおよびコレステロールエステル画分は, クロロホルム:メタノール (2:1, v/v), レシチンはクロロホルム:メタノール:酢酸:水 (50:39:1:10, v/v/v/v) でシリカゲル G から溶出した (Sugano ら, 1969)。

4) 脂肪酸組成の測定: TLC で分別した各脂質をけん化, メチル化後, GLC によつて脂肪酸を測定した (Metcalf & Schmitz, 1961)。ガスクロマトグラフは日本電子製 (JEOL, 750F), ジエチレングリコールサクシネートポリエステル (DEGS) を 5% 濃度でコートした Chromosorb P (A.W) DMCS (60~80 メッシュ) を充てんした 2m×4mm のカラムを用い

た。クロマトグラム上のピークは保持時間×高さで計算し, 脂肪酸組成は重量パーセントで示した。標準脂肪酸メチルによる測定精度は主成分については誤差±5%, 少量成分については±8%であつた (Sugano ら, 1969)。

## 実験結果

### 1) 体重および摂食量

Table 2 に示すように 20% および 32% カゼイン食では正常な体重増加を示したが, 8% カゼイン食では成長は悪かつた。肝臓重量は 8% カゼイン食で減少したが体重に対する肝臓重量の割合ではいずれの群においても差はみられなかつた。飼料摂食量は各群で差はみられなかつた。

### 2) 肝臓の脂質成分

Table 3 に示すように総脂質量はカゼインレベルの増加と平行の傾向にあつた。リン脂質量は 8% カゼイン食と比較して, 20% および 32% カゼイン食はいずれも高かつたが, 後二者間では差は認められなかつた。またコレステロール量でも同様の変化が認められたが, これは主にエステル型の増加によるものであつた。

### 3) 脂肪酸組成

レシチンの脂肪酸組成を Table 4 に示した。食餌タンパク質レベルの増加に伴いパルミチン酸, パルミトオレイン酸のしめる割合の減少, アラキドン酸の増加が認められた。そのほか, オレイン酸の割合の減少, ドコサヘキサエン酸の増加の傾向も認められた。トリグリセリドの脂肪酸組成 (Table 5) では 20%

Table 2. Body weight and food intake.<sup>1)</sup>

Group	Initial body weight (g)	Weight gain (g/16 days)	Food intake (g/day)	Liver g/100g body weight
8% Casein	193±3	19±4	14.7	4.9±0.2
20% Casein	196±3	52±5	15.2	4.8±0.1
32% Casein	192±5	51±6	14.8	4.9±0.1

1) Values are the means ± SE for five rats.

Table 3. Lipid content of the liver in rats.<sup>1)</sup>

Group	Total lipids (mg/g liver)	Phospholipids (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)	Cholesterol (mg/g liver)		
				Total	Free	Ester (%)
8% Casein	35.6±1.9	23.4±0.4	10.4±1.8	1.94±0.1	1.46±0.1	21.9
20% Casein	37.8±1.7	28.1±0.5 <sup>2)</sup>	7.4±1.5	2.29±0.1	1.66±0.1	27.1
32% Casein	40.5±1.2	29.4±0.8 <sup>2)</sup>	9.0±0.9	2.10±0.1	1.50±0.1	28.6

1) Each data represents the means ± SE for five rats.

2) Significantly different from rats on 8% casein diet at P<0.01.

Table 4. Fatty acid composition of liver lecithin from rats fed different levels of casein.<sup>1)</sup>

Group	Fatty acids (%)							
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	22:6
8% Casein	0.4±0.1	27.1±2.6	2.5±0.5	20.4±1.7	9.5±0.8	12.4±0.7	23.1±0.3	3.5±0.5
20% Casein	0.3±0.1	22.3±0.4	1.8±0.1	18.7±0.5	8.7±0.2	13.3±0.5	29.8±0.9 <sup>2)</sup>	4.2±0.2
32% Casein	0.2±0.1	19.7±0.6 <sup>3)</sup>	1.3±0.1 <sup>2)</sup>	22.0±1.4	7.6±0.3	10.2±0.7	33.0±1.0 <sup>3)</sup>	4.7±0.3

1) Each data represents the means ± SE for five rats.

2), 3) Significantly different from rats on 8% casein diet at P<0.05 and P<0.01, respectively.

Table 5. Fatty acid composition of liver triglyceride from rats fed different levels of casein.<sup>1)</sup>

Group	Fatty acids (%)							
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	20:5
8% Casein	1.4±0.1	29.4±1.3	7.7±0.3	2.3±0.1	42.9±0.6	15.8±1.3	0.4±0.1	—
20% Casein	1.1±0.1	28.4±1.9	8.6±0.5	2.1±0.1	36.3±1.5 <sup>2)</sup>	21.9±1.4 <sup>2)</sup>	1.1±0.1	0.2±0.1
32% Casein	1.0±0.1	27.6±0.9	8.3±0.6	2.4±0.1	36.4±1.4 <sup>2)</sup>	22.1±1.3 <sup>3)</sup>	1.2±0.2	0.5±0.1

1) Each data represents the means ± SE for five rats.

2), 3) Significantly different from rats on 8% casein diet at P<0.05 and P<0.01, respectively.

Table 6. Fatty acid composition of liver cholesterol ester from rats fed different levels of casein.<sup>1)</sup>

Group	Fatty acids (%)							
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	20:5
8% Casein	2.6±1.2	34.2±2.0	7.3±0.5	8.8±1.6	22.0±1.9	10.8±1.2	11.0±1.6	3.3±1.1
20% Casein	2.3±0.6	26.1±3.0	7.2±0.4	8.3±1.1	28.4±2.6	13.9±1.0	10.9±0.6	2.9±0.3
32% Casein	0.9±0.8	13.4±1.3 <sup>2)</sup>	2.7±0.2 <sup>2)</sup>	11.8±0.7	29.6±1.4 <sup>3)</sup>	16.1±0.6 <sup>2)</sup>	22.1±1.0 <sup>2)</sup>	3.4±1.0

1) Each data represents the means ± SE for five rats.

2), 3) Significantly different from rats on 8% casein diet at P<0.05 and P<0.01, respectively.

カゼイン食と32%カゼイン食の間には差は認められなかつたが、8%カゼイン食はこれら2群と比較してオレイン酸のしめる割合の増加、リノール酸の減少が認められた。コレステロールエステルの脂肪酸組成 (Table 6) では食餌タンパク質レベルの増加に伴いパルミチン酸、パルミトオレイン酸の割合が減少し、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸が増加する傾向にあつた。しかし、20%カゼイン食群と32%カゼイン食群の間にもかなりの差が認められた。パルミチン酸の割合が8%カゼイン食で、アラキドン酸が32%カゼイン食でそれぞれ高いことは注目すべきことである。またカゼインレベルによるリノール酸の変化はトリグリセリドと、アラキドン酸の変化はレシチンとそれぞれ同じ傾向を示した。

## 考 察

低タンパク質食がラットの肝臓に及ぼす影響についてすでに報告されているように (Harada & Mogi, 1966), 本報告でも成長の抑制と肝臓の脂質成分の変化がみられた。リン脂質は8%カゼイン食で低下した。さらに肝臓脂質の主要成分であるレシチン、トリグリセリド、コレステロールエステルについても変動が認められ、とくにレシチンではパルミチン酸は8%カゼイン食に比較して約40%にまで減少した。しかし、トリグリセリドにおいてはこのような変化は観察されず、オレイン酸、リノール酸でのみ変動があつた。このように食餌タンパク質のレベルが脂質代謝、とくに脂肪酸の代謝に著しい影響を及ぼすのみならず、その影響は各脂質成分についてきわめて特異的で

あることが明らかである。このような脂肪酸組成の変化は、同じ動物で行なつた血漿の脂質についても示され、32%カゼイン食では8%カゼイン食よりリン脂質量は高く、さらにリン脂質およびコレステロールエステルのパルミチン酸の割合が減少し、アラキドン酸が増加した(堀ら、未発表)。これら一連の変化は、生体内の膜成分にも変化を起すことが考えられるが、事実 Harada ら (1969), Rogers (1971) は低タンパク食で肝臓ミトコンドリアの swelling に対する感受性が高まり、さらにミトコンドリアのリン脂質中にしめるアラキドン酸の割合が減少することを認め、さらにドコサペンタエン酸の生成が低タンパク食で促進されると推論している。本実験ではレシチン中にドコサペンタエン酸はほとんど検出できなかった。レシチンおよびコレステロールエステル中のアラキドン酸の割合は、血漿、肝臓とも8%カゼイン食で著しく低値を示しており、リノール酸からアラキドン酸への反応が低カゼイン食で抑制されることが考えらる。Inkpen ら (1969), Peluffo ら (1971, 1972) は絶食後の再摂食でカゼインが肝臓ミクロソームにおける 6-desaturation を増加させると報告している。本報告の肝臓レシチンの脂肪酸組成でもこの報告を支持する結果が得られた。

一方、タンパク質の質の面から Ogura ら (1968) はアミノ酸インバランス食でトリグリセリド中でパルミチン酸、パルミトオレイン酸が著しく増加することを報告し、さらに Viviani ら (1964) はリジンおよびスレオニン欠乏食で屠体の全脂質中のリノール酸、アラキドン酸の減少を報告している。

以上のことから低タンパク食は、脂肪酸の代謝、とくにリノール酸からアラキドン酸への反応を抑制し、それらのプールサイズに変化を起させると同時に、他の脂肪酸との間にアンバランスを生じ、各脂質成分の組成に変化を起すことが考えられる。この点についてのより詳細な知見はこれらの変化が細胞の顆粒成分でどのように起っているのか、あるいは摂取カロリー量を一定に厳密にコントロールした場合どうであるのかなどについてさらに研究をすすめることにより得られるであろう。

## 要 約

ラット肝臓の脂質成分に及ぼす飼料中のカゼイン量(8%, 20%, 32%)の影響について検討した。

1) 8%カゼイン食で、リン脂質量は著しく低下した。

2) 各脂質成分の脂肪酸組成の変化はカゼインレベルの増減にともなつてほぼ一定の傾向を示したが、20%カゼイン食と32%カゼイン食の間では著しい差異はなかつた。レシチンでは32%カゼイン食と8%カゼイン食を比較した場合、高タンパク食でパルミチン酸、パルミトオレイン酸の割合が減少しアラキドン酸が増加した。トリグリセリドでは高カゼイン食でオレイン酸の割合が減少し、リノール酸が増加した。コレステロールエステルでは変化が最も著しく、ほとんどの主要成分で増減があつた。

3) 以上のように飼料中のカゼインレベルによつて各脂質成分の脂肪酸組成はそれぞれ特異的に変化した。さらに肝臓におけるリノール酸のアラキドン酸への不飽和化反応やそれらのプールサイズに食餌タンパク質のレベルが直接関係していることが示された。これらの変動が肝臓脂質の他の脂肪酸の濃度にも影響することが推察された。

## 文 献

- 芦田淳 1966 栄養性肝障害。代謝, 3: 8-14  
 芦田淳・吉田昭 1961 アミノ酸インバランスと肝脂質の変動。蛋白質 核酸 酵素, 11: 657-661  
 Bragdon, J.H. 1960 Method for determination of total serum lipids. In "Lipid and steroid hormones in clinical medicine", ed. by Sunderman, F. W., Lippincott Press, Philadelphia, Montreal, pp. 9-14  
 Folch, J., Lees, M. and G. H. Sloane-Stanley 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497-509  
 Gomori, G. 1942 A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with the photoelectric colorimeter. *J. Lab. Clin. Med.*, 27: 955-960  
 Hanahan, D. J. and R. Blomstrand 1956 Observations on the incorporation *in vivo* of palmitic acid-1-<sup>14</sup>C and oleic acid-1-<sup>14</sup>C into lecithins. *J. Biol. Chem.*, 222: 677-683  
 Harada, N., M. Kurahashi and M. Haga 1969 The influence of low casein diet on the fatty acid composition of rat liver mitochondrial phosphatides. *Agr. Biol. Chem.*, 33: 168-175  
 Harada, N. and S. Mogi 1966 The influence of low protein diet on the composition of rat liver cell fractions. *Agr. Biol. Chem.*, 30: 274-277  
 堀康二・藤田修二・菅野道廣・和田正太 食餌たんぱく質レベルとラット血漿のコレステロールエステル化。ラット血漿のレシチン:コレステロールア

- シルトランスフェラーゼに及ぼす食餌因子 (第1報). 栄養と食糧 (印刷中)
- Inkpen, C.A., R.A. Harris and F.W. Quackenbush 1969 Differential responses to fasting and subsequent feeding by microsomal systems of rat liver: 6- and 9-desaturation of fatty acids. *J. Lipid Res.*, **10**: 277-282
- Lands, W. E. M. 1958 Metabolism of glycerolipids: A composition of lecithin and triglyceride synthesis. *J. Biol. Chem.*, **231**: 883-888
- Lyman, R. L., C. R. Cook and M. A. Williams 1964 Liver lipid accumulation in isoleucine-deficient rats. *J. Nutr.*, **82**: 432-438
- Mangold, H. K. 1961, 1964 Thin-layer chromatography of lipids. *J. Am. Oil. Chemist's Soc.*, **38**: 708-727; **41**: 762-773
- Metcalf, L. D. and A. A. Schmitz 1961 The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **33**: 363-364
- Ogura, M., H. Tanaka and A. Ito 1968 Biochemical studies on fatty liver Part IV. Changes of fatty acid composition in fatty livers induced by an amino acid imbalance. *Agr. Biol. Chem.*, **32**: 920-922
- Peluffo, R. O., I. N. T. Gomez Dumm, M. J. Alanig and R. R. Brenner 1971 Effect of protein and insulin on linoleic acid desaturation of normal and diabetic rats. *J. Nutr.*, **101**: 1075-1083
- Peluffo, R. O., I. N. T. Gomez Dumm and R. R. Brenner 1972 The activating effect of dietary protein on linoleic acid desaturation. *Lipids*, **7**: 363-367
- Rogers, C. G. 1971 Lipid composition and metabolism in liver mitochondria and microsomes of rats fed a low protein diet. *J. Nutr.*, **101**: 1547-1554
- Schlierf, G. and P. Wood 1965 Quantitative determination of plasma free fatty acids and triglycerides by thin layer chromatography. *J. Lipid Res.*, **6**: 317-322
- Sperry, W. M. and M. Webb 1950 A revision of the Shoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.*, **187**: 97-106
- Sugano, M., K. Imaizumi, S. Cho, K. Hori and M. Wada 1969 Hepatotoxicity and lipid metabolism-I Structure of liver triglyceride in rats dosed with carbon tetrachloride. *Biochem. Pharmacol.* **18**: 1961-1970
- Viviani, R., A. M. Sechi, and G. Leuaz 1964 Effect of lysine and threonine deficiency on the fatty acid composition of carcass lipids in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **84**: 201-204
- Wilfred, G. and T. N. S. Varma 1969 The mechanism of hepatic fatty infiltration in acute threonine deficiency. *Biochim. Biophys. Acta*, **187**: 442-443
- 吉田昭 1972 たんぱく質の栄養価. 島蘭, 中川編: たんぱく質の代謝と栄養. 朝倉書店, 東京, 197-206頁
- Yoshida, A. and A. E. Harper 1960 Effect of threonine and choline deficiencies on the metabolism of <sup>14</sup>C-labeled acetate and palmitate in the intact rat. *J. Biol. Chem.*, **235**: 2586-2589

### Summary

The effects of the dietary protein levels on liver lipids of the male rats were examined using 8, 20 and 32 % casein diets.

Feeding a diet of 8 % casein resulted in considerably lower level of hepatic phospholipids in comparisons to that of 20 and 32 % casein. Modification of the fatty acid compositions of several lipid components tested was reflected in general by the levels of dietary casein. There was, however, no obvious differences in these parameters between 20 and 32 % casein diets. When comparisons were made between 8 and 32 % casein diets, ingestion of the lower dietary protein caused the decreased percentage of arachidonic acid and the increased percentage of palmitic and palmitoleic acids in lecithin. In triglyceride, the percentage of oleic acid was increased and that of linoleic acid decreased. The most remarkable change was noticed in the cholesterol ester fraction in which almost all of the major components were altered by the levels of the dietary protein.

These observations clearly indicated that the concentration and composition of each hepatic lipid component were specifically altered by the differences in the levels of dietary casein. Additionally, the dietary protein levels appeared to directly influence not

---

only on the desaturation of linoleate to arachidonate but also on the pool size of these essential fatty acids. It is suggested that these alteration induced by differences in the dietary protein levels may influence the concentration of other fatty acids in the hepatic lipid components.