

B-19 4-ペンテン酸による実験的ライ症候群の
肝脂質分析

分担研究者：山下文雄（久留米大学 小児科）

共同研究者：松行真門（久留米大学 小児科）

対象：体重 230 g ~ 350 g の Wister 系 雄 ラットに 20 mg/ml の 4-ペンテン酸を腹腔内投与した。投与量は 50 mg/kg で 4 時間毎に 21 回投与し、最終投与 2 時間後に開腹した。開腹前 24 時間は飢餓時間にした。開腹後、速やかに心腔内よりヘパリン採血し、肝臓を摘出した。コントロール群は同量の生理食塩水を同様の方法で投与した。

方法：肝組織 1 g 湿重量から Folch 法により脂質を抽出し、総脂質は重量法で測定した。

総脂質の一定量をシリカゲル G の薄層プレートに着点しヘキサノール-酢酸 (80:20:1) で展開して、中性脂肪、遊離脂肪酸、総リン脂質を分取した。

中性脂肪は酵素法でグリセロールから生成した NADH² を比色法で測定した。

遊離脂肪酸は酵素法で生成したアシル C
 の A を比色法で測定した。
 総リン脂質は酵素法で生成した過酸化水
 素を比色法で測定した。
 また、血漿遊離脂肪酸も同様に酵素法で
 測定した。
 中性脂肪は HCL-メタノール、遊離脂肪酸
 は BF₃-メタノールでメチル化し、島津
 GC-7AG ガスクロマトグラフィで
 構成脂肪酸を分析した。
 カラムは 5% Advance-DS, Shinchron A (DM
 CS) 80/100 mesh 2m x 3mmφ のガラスカ
 ラムを用い 160-220°C を毎分 2°C
 昇温したキャリアガスの流量は 30ml/min
 (N₂) とした。
 脂肪酸の定量は C 17 を内部標準とし、各
 構成脂肪酸を内部標準との相対モル比で
 定量した。

結果：4-ペンテン酸投与ラット肝組織
 の電顕像 (Fig 1) は肝細胞内にび慢性
 に小脂肪滴を認め、ミトコンドリアの de
 ncity の低下を認めるが、明らかな膨化、
 内部構造の破壊は見られなかった。
 薄層クロマトグラフィ (Fig 2) は 4
 ペンテン酸接種ラットはコントロールよ
 りトリグリセリドの増加が見られたが遊
 離脂肪酸はコントロールとの間に差は見
 られなかった。

重量法による総脂質の定量，酵素法によるトリグリセリド、遊離脂肪酸、総リン脂質、及び血漿遊離脂肪酸の測定の結果を Table 1 に示す。肝湿重量 1 g あたりの総脂質は 4 ペンテン酸群がコントロール群の約 2 倍に有意に増加していた ($p < 0.05$)。肝組織内中性脂肪は 4 ペンテン酸群がコントロール群の約 5 倍に有意に増加していた ($p < 0.01$)。肝組織内遊離脂肪酸、肝組織内総リン脂質および血漿遊離脂肪酸はコントロール群との間に有意差はなかった。ガスクロマトグラフィ分析では、肝組織内遊離脂肪酸の各構成脂肪酸は 4 ペンテン酸群とコントロール群との間に有意差はなかった (Table 2)。肝組織内中性脂肪 1 mg あたりの構成脂肪酸の検討では、4 ペンテン酸群は C16 (パルミチン酸)、C16:1 (パルミトール酸)、C18:1 ω 9 (オレイン酸) がコントロール群より有意の増加が認められた。しかし他の構成脂肪酸は有意差はなかった。(Table 3)、(Fig 3)。

考察：4 ペンテン酸はジャマイカ嘔吐症の原因物質と考えられている hypoglycin の類似構造を有し、本剤をラットに腹腔内投与すると、ラットに嘔吐候群を誘起する。また、ジャマイカ嘔吐症候群を誘起する物質として、本剤をラットに腹腔内投与すると、ラットに嘔吐候群を誘起する。以上より、ジャマイカ嘔吐症候群を誘起する物質として、本剤をラットに腹腔内投与すると、ラットに嘔吐候群を誘起する。

ase または thiolase の活性を抑制することが知られている⁴⁾⁹⁾。我々のライ型脂肪肝の肝組織中の遊離脂肪酸の構成はコントロール群と有意差はなかったが、中性脂肪の構成脂肪酸は、C16, C16:1, C18:1ω9がコントロール群より有意に増加していた。しかしこれがβ酸化障害によるものかは今後の検討を要すると思われる。

文献

- 1) Senior, A.M. and Sherratt, H.S.A. *Biochem. J.* 110, 499, 1968.
- 2) Glasgow, A.M. and Chase, H.P. : Production of the features of Reye's syndrome in rats with 4-pentenoic acid. *Pediatr. Res.* 9:133, 1975.
- 3) I. Yoshida. : Electronmicroscopic and energetic aspects in 4-pentenoic acid induced-fatty liver model of Reye's syndrome. *Kurume Med. J.* 26, 273, 1979.
- 4) Thayer, W.S. : Inhibition of mitochondrial fatty acid oxidation in pentenoic acid-induced fatty liver. *Biochemical Pharmacology*, 33, 1187-1194, 1984.
- 5) Partin, J.C. et al : Mitochondrial ultrastructure in Reye's syndrome. *N.*

Engl. J. Med. 285:1339, 1971.

6) Perinchief, P.N.: A disease of incompetent mitochondria. in Lifshitz edited Clinical Disorders in Pediatric Gastroenterology and Nutrition. Marcel Dekker, New York, 1980.

7) Pollack, J.D, et al. Serum and tissue lipids in Reye, s syndrome. Pollack, J.D. edited Reye, s syndrome. Grune and Stratton, New York, 1975.

8) Glasgow, A.M.: Personal communication.

9) Holland, P.C., Senior, A.E., and Sherratt, H.S.A.: Biochemical effect of the hypoglycaemic compound pent-4-enoic acid and related non-hypoglycaemic fatty acids Biochem. J. 136, 173-184, 1973.

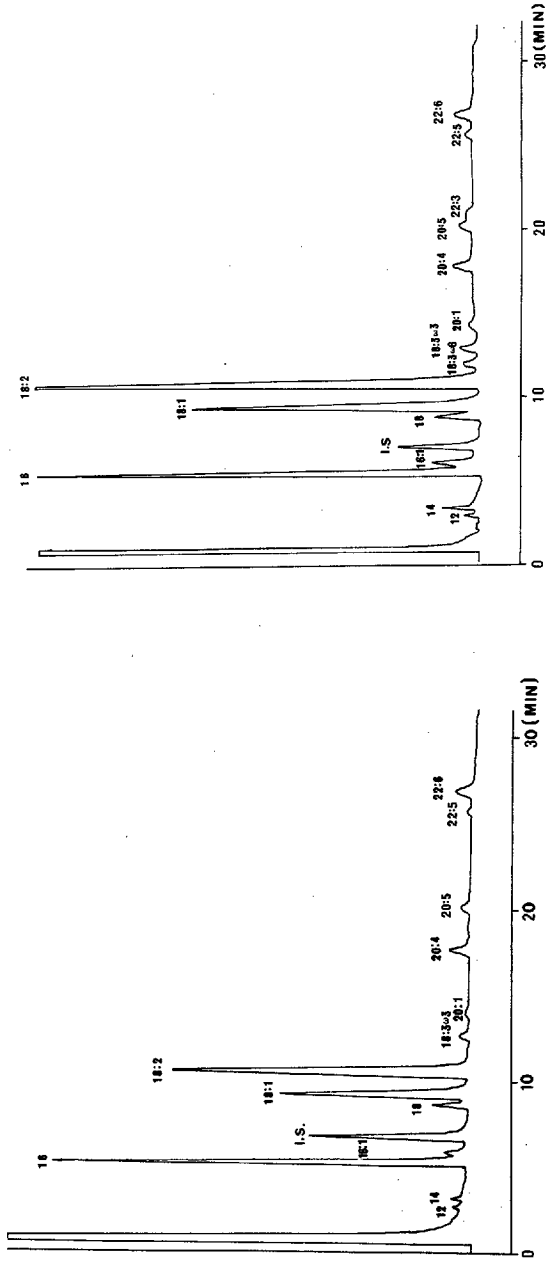


Fig 3 中性脂肪の構成脂肪酸のガスクロマトグラム

a: 生理食塩水投与ラット肝、b: 4-ベンテン酸投与ラット肝

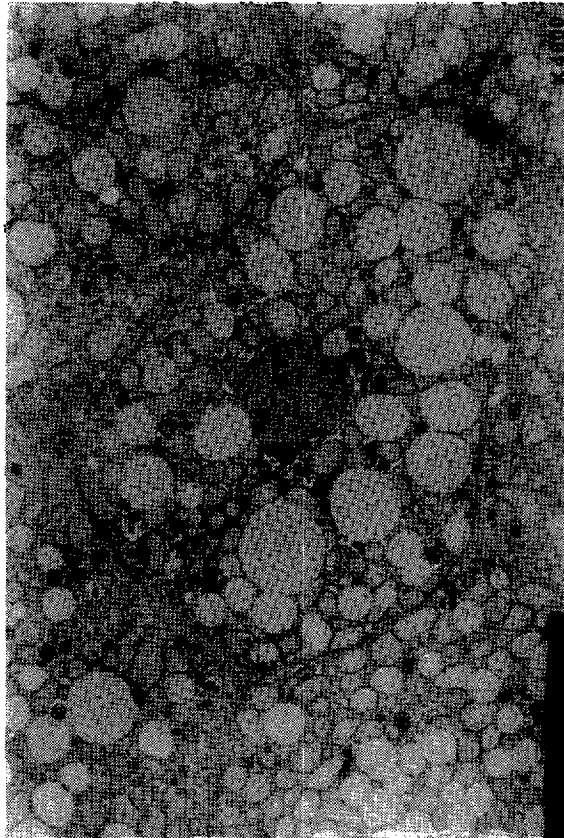


Fig 1 4-ベンテン酸投与ラット肝組織の電顕像

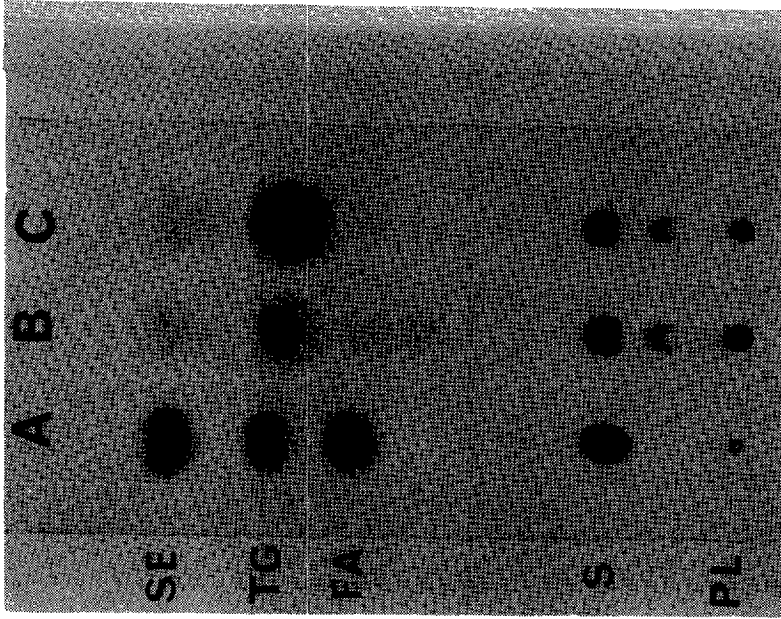


Fig 2 A : スタンダード (SE:sterol ester, TG: triglyceride, FA: fatty

acid S:sterol, P: phospholipids)、B : 生理食塩水投与ラット肝脂質、

C : 4-ベンテン酸投与ラット肝脂質の薄層クロマトグラム

Bに比べてCのTG (中性脂肪) が増加している。

Table 3 肝内中性脂肪の構成脂肪酸 (μ moles HDA/mg TG)

Fatty acid	Control(N=4)	Experimental(N=5)	
C14	—	0.326	
C16	2.000	3.926	*
C16:1	—	0.788	*
C18	0.062	0.464	
C18:1 ω 9	1.285	3.662	**
C18:2 ω 6	1.690	4.992	
C18:3 ω 6	—	0.084	
C18:3 ω 3	0.065	0.142	
C20	—	0.014	
C20:1 ω 9	0.092	0.130	
C20:2	—	0.014	
C20:3 ω 6	—	0.010	
C20:4 ω 6	0.128	0.372	
C20:5 ω 3	0.078	0.236	
C22:3	—	0.116	
C22:5 ω 3	0.013	0.076	
C22:6 ω 6	0.165	0.110	

*= P<0.05, **= P<0.01



Table 1 肝組織中の脂肪組成および血漿遊離脂肪酸

	Saline	4-P.A.	
Total lipids (mg/g W.T.)	51.9±7.9	94.8±23.3	*
Triglyceride (mg/g W.T.)	3.9±1.0	19.6±7.5	**
Free fatty acids (μEq/g W.T.)	5.1±5.0	5.5±5.2	
Lipid phosphorus (mg/g W.T.)	32.3±28.4	47.5±20.5	
Plasma free fatty acid(μEq/l)	75.3±19.9	115.2±25.8	

*= P<0.05 **= P<0.001

Table 2 肝組織中の遊離脂肪酸組成 (μmoles HDA/g W.T.)

Fatty acid	Control(n=4)	Experimental(N=4)
16	0.417	0.372
16:1	0.018	0.021
18	0.061	0.052
18:1ω9	0.128	0.122
18:2ω6	0.323	0.197
20:4ω6	0.062	0.037
20:5ω3	0.015	0.013
22:6ω3	0.021	0.018



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



対象:体重230g~350gのWister系雄ラットに20mg/mlの4-ペンテン酸を腹腔内投与した。投与量は50mg/kgで4時間毎に21回投与し,最終投与2時間後に開腹した。開腹前24時間は飢餓時間にした。開腹後,速やかに心腔内よりヘパリン採血し,肝臓を摘出した。コントロール群は同量の生理食塩水を同様の方法で投与した。