

放射線全身照射にともなうラット血清脂質分画の変動 —コレステロール値と分画脂酸構成について—

岡山大学医学部口腔外科学教室（主任：西嶋克巳教授）

（指導：岡山大学医学部放射線医学教室山本道夫教授）

大 橋 茂

（昭和53年11月15日受稿）

Key words：ラット血清，脂質分画，脂肪酸分析，コレステロール，放射線照射

緒 言

血漿中の脂質はリポタンパクを形成し、逆にそのリポタンパクは脂質の運び手であってそれ自体は酵素活性を有していないが、その存在は生体の健康維持の上で極めて重要である^{1,2)}。生体への放射線全身照射後の血清学的変化は、タンパク面より数多くの報告がなされている^{3,4)}。リポタンパクの脂質はエネルギー代謝に使われるだけでなく、周辺細胞における脂質合成にも関与するが、その合成は血中脂質の量によって制禦されていると考えられている⁵⁾。

放射線照射によってもたらされる全身の障害、ひいては恒常性破壊にともなう、血漿中の脂質が如何に変動するかは、放射線の全身的作用を考慮する上で興味ある問題である。哺乳動物の血清脂質に対する放射線全身照射の効果は数々報告されてきている^{6,7,8)}。中でも兎、犬では致死線量のX線照射では脂血症が起り易く⁹⁾、血清脂質の変化はその動物の生死の判定によく関連し、予後の指標になり得るとの報告^{10,11)}は注目される。またコレステロールに関しても放射線照射後の血清あるいは肝において、その含有量の変化については種々異なった報告^{6,7,9,11,17,23)}がなされて来ている。

ラット血清脂質の放射線照射による変動については、Eberhagen et al.¹²⁾は脂肪酸の変化とコレステロールの変化は非常に良く似た消長をしめすと報告し、また Rehnberg et al.¹⁰⁾は照射によって低密度リポタンパクの減少がおり、その減少が脂肪酸の変動を来すことを報告しているが、詳細はさらに究明される必要がある。

そこで私はX線全身照射ラット血清における脂質の総括的な検討の一環として、脂質分画脂肪酸組成

の変動とコレステロール値の変動の解析を行い、あわせて肝における脂質分画脂肪酸の変動を比較検討した。

実験材料および方法

1) 実験動物：ウイスター系雄性ラット80～100gを購入し、市販のオリエンタル社製MF固型飼料と水を自由に与えて飼育した。放射線照射の実験は、600rad照射群では体重200g前後のもの、1000rad照射群では体重350～400gの健康ラットを用いた。

2) X線照射条件：東芝製KXC19型深部治療用X線発生装置を用いた。照射は管電圧200KVP、管電流25mA、濾過板0.5mmCu+0.5mmAl、焦点皮膚間距離50cm、線量率76R/min、radへの換算を係数0.95を用いた。なおX線照射は各実験群全て午後3時を照射開始時として行った。

3) 血清の分離：全ての実験において採血は午後3時から30分間に行った。ラットをエーテル麻酔後眼底静脈より細管にて採血、凝固後、遠心、血清を分離した。

4) 血清コレステロール、コレステロールエステルの定量：Kiliani反応によるZak et al.抽出法²⁴⁾に準じて行った。すなわち目盛付試験管に血清0.2ml、および抽出液（アセトン：エタノール、1：1）約0.5mlを入れ、振とう混和後、温湯水中で気泡が現われるまで加熱し、流水中で冷却、これに抽出液を加えて全量10mlとし、遠心、上清液を2.0mlづつ2本の試験管にとり、一本は蒸発乾固後酢酸（超特級）3.0ml、Rosentalの呈色試薬（塩化第二鉄2.5gを濃リン酸100mlにとかしたものを8mlに硫酸（超特級）を加えて全量100mlとしたもの）2.0mlを加え激しく混和、30分後測定波長560m μ で吸光度を測

定し総コレステロール値を算出した。他方の試験管は1.0mlになるまで蒸発減量し、ジギトニン液(ジギトニン1gにエタノール50ml, 水50mlを加え溶かしたもの)を加え, 4時間放置後遠心分離(3000rpm, 10分)後上清を捨てアセトン4.0mlを加え再度遠沈, 上清を除去した後, 沈渣に上記同様酢酸, 呈色試薬を加え吸光度を測定, 遊離コレステロールを算出した。エステル型値は総コレステロール値より遊離コレステロール値を引いて求めた。エステル比はエステル型値の総コレステロールに対する比で現わした。

5) 脂質の分離: 分離した血清の20倍量のクロロホルム:メタノール(2:1)の抽出液を加え前報²⁷⁾の如く Folch et al.²⁵⁾の方法に準じて行った。

6) 総脂質量の測定: 目盛付試験管に血清0.2mlをとり, クロロホルム:メタノール(2:1)抽出液を加えて総量20mlとし, 脂質を抽出した。分離過程時において計量を行い, 最終クロロホルム層の一定量を短試験管にとり, 蒸発乾固し, 重クロム酸化法にて脂質量を測定, 血清1ml当りの総脂質量を算出した。重クロム酸化法はSkipski et al.²⁵⁾の法に準じて, 350 μ mの吸光度を測定, パルミチン酸検量線より算定した。各群5匹当りの平均値を求めた。

7) 脂質分画: 総脂質より前報²⁷⁾のごとく, シリカゲル薄層クロマトグラフィーで分離分画した。各群5匹当りの平均値を求めた。

8) 脂肪酸組成の分析: 各分画について前報²⁷⁾のごとく, メチルエステル化²⁸⁾後, ガスクロマトグラ

フィーを行い, 組成比を算出した。各群5匹の平均値を求め, 偏差値のないものは5匹分を集め測定したものである。

9) 肝の脂肪酸組成分析: 断頭放血後, 肝を分離, 血清同様脂質を分離分画, ガスクロマトグラフィーを行った。各群5匹当りの平均値を求めた。

実験結果

1) 体重差によるコレステロール値の変化: 同一飼料で飼育した健康ラットの体重差(130g, 230g, 500g)における血清コレステロールの変化を各群5匹の平均値 \pm S. D.として表1に示した。体重の増加にともなう, 血清総コレステロールの増加が認められた。しかし遊離型コレステロールの増加は僅かであり, エステル比の増加がみられ, 総コレステロールの増加はエステル型の増加が主因であると考えられる。

2) X線全身一回照射のコレステロール値におよぼす影響: 600rad照射したラットにおけるコレステロール値の経日変化を表2に示した。非照射(対照)群の総コレステロール値は0.68mg/ml血清を示しエステル比は63.2%であった。照射後1日目では総コレステロール平均値の増量(1.1倍)が認められ, 遊離型, エステル型ともに増加してエステル比は61.3%を示した。照射後3日目では総コレステロールの増加は1.6倍と有意に認められ, 遊離型, エステル型とも増加しているが, エステル比は70.3%が得ら

TABLE 1. CHOLESTEROL CONCENTRATIONS OF THE SERA OF RATS IN VARIOUS BODY-WEIGHT.

Body weight (g)	Cholesterol contents (mg/g tissue)			Ratio of ester (%)
	Total	Free	Ester	
130	0.68 \pm 0.03	0.23 \pm 0.03	0.43 \pm 0.04	63.2
230	0.72 \pm 0.02	0.24 \pm 0.01	0.48 \pm 0.03	66.7
500	0.88 \pm 0.03	0.26 \pm 0.03	0.62 \pm 0.02	70.5

TABLE 2. EFFECT OF X-IRRADIATION (WHOLE-BODY, SINGLE DOSE OF 600 rad) ON CHOLESTEROL CONCENTRATIONS OF THE SERA OF RATS.

Day after exposure	Cholesterol contents (mg/ml)			Ratio of ester (%)
	Total	Free	Ester	
Control	0.68 \pm 0.03	0.25 \pm 0.04	0.43 \pm 0.04	63.2
Day 1	0.75 \pm 0.10	0.29 \pm 0.05	0.46 \pm 0.07	61.3
Day 3	1.11 \pm 0.14	0.35 \pm 0.05	0.78 \pm 0.10	70.3
Day 7	0.56 \pm 0.10	0.22 \pm 0.03	0.34 \pm 0.07	60.7

れ、エステル型の増加が著しいことが示された。照射後7日目で総コレステロールの平均値は対照群より低い値(0.8倍)が得られ、遊離型、エステル型とも対照群より低く、エステル比は60.7%が示された。これらからX線照射後一過性の総コレステロールの増加が明らかで、遊離型は徐々に増加し、後に減少、エステル型はエステル比が照射後1日目で若干低下し、3日目で増加、再び低下したことから遊離型に比しX線に対する変化が激しいことがうかがわれた。

1000rad 致死線量照射群の照射後3日目のコレステロール値を表3に示した。照射後3日目において非照射群に比して総コレステロールは1.8倍の増加を示した。600rad 照射群と同様遊離型(1.6倍)、エステル型(1.8倍)ともに増加がみられ、エステル型の変化の方が激しく、エステル比の増加が示された。

血清総脂質(パルミチン酸当比)は、対照で4.4mg/ml、照射群で5.2mg/mlが得られ、照射に伴う増加がみられた。この総脂質に対する総コレステロールの含有比は、対照群18%、照射群26%を示し、総脂質増加量(0.84mg/ml)に対して総コレステロール増加量(0.61mg/ml)が変化の主因であることがうかがわれる。この点を解明するため脂質分画の定量を試みた。

3) 血清脂質分画の照射にともなう変動: 表4に示すごとく、各脂質分画の全脂質に対する組成比は、対照群でリン脂質16.3%、コレステロール(遊離型)8.5%、遊離脂肪酸4.2%、トリグリセリド39.8%、コレステロールエステル31.3%を示した。一方照射群(1000rad照射3日後)の組成比は表4に示した如く、対照群に比して、リン脂質1.3倍、遊離コレステロール1.3倍、遊離脂肪酸1.9倍、コレステロールエステル1.5倍と増加し、一方トリグリセリドは0.3倍に減少することが示された。これら得られた組成比を総脂質量(表3)に当てはめて換算すると

実質量として、総脂質量のX線照射に伴う増加(0.84mg/ml)はリン脂質の0.4mg/mlの増加、遊離脂肪酸の0.23mg/mlの増加、コレステロールの0.22mg/mlの増加、トリグリセリドの1.03mg/mlの減少、コレステロールエステルの1.02mg/mlの増加となる。このことから総コレステロールの増加は1.24mg/mlと最も照射による変動が著しく、次いでトリグリセリドの大巾な減少が明らかである。しかし表4に示すごとく総コレステロールの換算値は、対照群で1.73mg/ml、照射群で2.97mg/mlとなり、これらの数値は臨床法(Kiliani反応法)で得られた値よりそれぞれ約2倍の高値が示された。このことは脂質抽出法の違い、プレート上の脂質発色定量、総脂質のパルミチン酸当量など換算するには問題があることを示すが、換算値においても照射群で総コレステロールは1.7倍と臨床法で得られた増加率と同様で、エステル比の値も同程度の増加が示され相関がみられることから、照射にともなう血清脂質量変化の主因はコレステロールエステルの変化であることが示唆される。

4) 血清脂質分画の脂肪酸組成と照射後の変動: 非照射群と照射群(1000rad照射後3日目)の脂肪酸組成を表5に示した。血清脂肪酸の主成分はパルミチン酸(C_{16:0})、ステアリン酸(C_{18:0})、オレイン酸(C_{18:1})、リノール酸(C_{18:2})、アラキドン酸(C_{20:4})であり、この5脂肪酸とミスチン酸(C_{14:0})、パルミトオレイン酸(C_{16:1})を併せて各脂質分画について解析した。対照の総脂肪酸はC_{18:2}>C_{16:0}>C_{18:1}>C_{20:4}>C_{18:0}の順に多く、照射群ではC_{20:4}>C_{16:0}>C_{18:0}>C_{18:2}>C_{18:1}と組成比が変動し、飽和脂肪酸対不飽和脂肪酸比においては不飽和脂肪酸の若干の減少がみられた。飽和脂肪酸においてはC_{16:0}の若干の減少、C_{18:0}の倍増、不飽和脂肪酸においてはC_{18:1}の半減、C_{18:2}の大巾な減少とC_{20:4}の3倍増が示され、両者において短鎖の減少、長鎖の増加が認められた。

TABLE 3. CHANGES OF TOTAL LIPID AND CHOLESTEROL CONTENTS OF THE RAT SERUM BY WHOLE-BODY IRRADIATION WITH THE SINGLE DOSE OF 1,000 rad.

Sera	Total lipid contents (mg/ml)	Cholesterol contents (mg/ml)			Ratio of ester (%)
		Total	Free	Ester	
Normal Day 3	4.36±0.12	0.79±0.08	0.19±0.01	0.60±0.07	76.0
after exposure	5.20±0.43	1.40±0.15	0.31±0.05	1.09±0.10	77.9

TABLE 4. RELATIVE COMPOSITIONS OF THE LIPID FRACTIONS SEPARATED BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY FROM SERUM LIPIDS OF NORMAL AND X-RAY (1,000rad) IRRADIATED RATS.

Fractions	Relative Normal	percentages Day 3 after exposure
Phospholipid	16.3±2.9	21.5±1.4
Cholesterol	8.5±1.8	11.4±1.3
Fatty acid	4.2±0.4	7.9±1.3
Triglyceride	39.8±3.6	13.5±2.8
Cholesterolester	31.3±4.3	45.7±2.8

リン脂質脂肪酸組成は、対照群で $C_{16:0} > C_{18:0} > C_{18:2} > C_{18:1} > C_{20:4}$ の順に多く、不飽和脂肪酸の減少がみられ、 $C_{16:0}$ の減少、 $C_{18:0}$ の増加、 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ の減少と総脂肪酸と同じ傾向がみられたが、アラキドン酸 ($C_{20:4}$) の含有比は少なく、照射による増加

もみられなかった。照射によって含量が大巾に減少するトリグリセリドの脂肪酸組成比は $C_{16:0} > C_{18:1} > C_{18:2} > C_{18:0}$ の順に多く、 $C_{20:4}$ は微量であった。照射によって不飽和脂肪酸の減少が前二者同様にみられたが、総脂肪酸組成と異って $C_{16:0}$ の増加がみられた。コレステロールエステルの脂肪酸組成は、対照群で $C_{18:2} > C_{16:0} > C_{20:4} > C_{18:1}$ の順に多く、他の分画に比して不飽和脂肪酸含有比が高く、 $C_{20:4}$ が22%と多い。照射群では $C_{20:4} > C_{18:2} > C_{16:0} > C_{18:1}$ と組成比に変動がみられ、さらに不飽和脂肪酸比が増加し、 $C_{20:4}$ は61%をしめ、著しい増加がみられ、 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{16:1}$ の各不飽和酸は総脂肪酸と同様減少がみられた。リン脂質、トリグリセリド、コレステロールエステルの共通した変化は $C_{16:1}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:2}$ の不飽和脂肪酸の減少であった。総脂肪酸における $C_{20:4}$ の変化は、コレステロールエステルの脂肪酸変化が反映しており、 $C_{18:0}$ の変化はリン脂質の変化が主因と考えられる。

5) 肝脂質脂肪酸組成の照射に伴う変動：血清

TABLE 5. FATTY ACID COMPOSITIONS OF SERUM LIPID FRACTIONS OF NORMAL AND X-RAY(1,000rad) IRRADIATED RATS.

Fatty acids	Total lipid		Relative percentages Phospholipid		Triglyceride		Cholesterolester	
	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure
14:0	0.9±0.2	0.6±0.1	1.0±0.1	0.9±0.2	1.7±0.4	2.0±0.7	1.9±0.1	0.6±0.2
16:0	27.3±1.1	21.5±1.0	38.6±1.4	33.8±1.9	37.6±2.1	44.4±4.1	22.9±2.3	12.0±1.6
16:1	3.5±0.7	0.8±0.2	1.7±0.6	0.7±0.2	4.3±1.0	1.5±0.8	6.7±1.8	1.4±0.4
18:0	9.7±0.6	18.9±0.6	24.5±1.4	42.9±2.4	5.1±0.9	11.5±3.5	2.3±1.1	2.4±0.7
18:1	18.5±0.9	8.9±0.7	10.0±0.7	7.1±1.3	34.3±3.2	24.8±2.4	14.9±0.9	5.2±0.4
18:2	28.5±2.0	17.8±1.6	19.2±0.6	9.3±2.0	17.1±2.8	15.8±2.3	29.2±3.2	17.3±1.5
20:4	11.6±1.3	31.6±1.7	5.1±1.1	5.4±0.8			22.1±2.6	61.1±1.4

TABLE 6. FATTY ACID COMPOSITIONS OF LIVER LIPID FRACTIONS OF NORMAL AND X-RAY(1,000rad) IRRADIATED RATS.

Fatty acids	Total lipid		Relative percentages Phospholipid		Triglyceride		Cholesterolester	
	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure	Normal	Day 3 after exposure
14:0	0.5±0.2	0.3±0.1	0.4±0.1	0.2±0.1	2.7±0.5	2.6±0.2	9.1±6.5	19.4±8.6
16:0	25.4±2.7	20.6±0.5	29.7±1.6	19.6±4.8	42.3±0.6	50.6±1.3	44.8±4.1	45.8±7.6
16:1	2.5±0.7	0.5±0.1	2.1±0.5	0.4±0.1	7.2±1.6	1.6±0.2	6.5±2.3	5.1±0.8
18:0	22.2±1.6	28.2±0.7	27.9±1.1	38.4±3.8	3.7±0.9	7.4±0.6	11.6±3.2	13.6±2.3
18:1	14.1±1.8	6.8±1.1	12.1±1.1	6.0±0.6	41.8±2.0	37.5±1.8	23.1±5.9	14.4±3.5
18:2	16.8±0.8	17.2±1.1	14.1±0.3	13.4±1.0	2.4±1.8	0.8±0.2	4.9±1.1	2.7±1.0
20:4	18.6±1.2	26.2±1.0	13.6±1.1	21.6±1.8				

中の脂肪酸の大部分は肝で作られると考えられている²⁹⁾。そこであわせて肝の脂質分画の脂肪酸組成の解析を行った(表6)。

肝総脂質の脂肪酸組成は表6に示すごとく、対照群では $C_{16:0} > C_{18:0} > C_{20:4} > C_{16:1}$ の順に多くみられた。血清総脂肪酸とくらべて $C_{18:0}$ 、 $C_{20:4}$ が多く、 $C_{18:2}$ が少い。照射群では $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$ の減少、 $C_{18:0}$ 、 $C_{20:4}$ の増加がみられた。 $C_{18:2}$ では変動がみられていないが、その他は血清総脂肪酸におけると同様の傾向が認められた。

リン脂質の脂肪酸組成では総脂肪酸のそれと似た組成比が得られたが、血清リン脂質に比して $C_{20:4}$ が高度に含まれている。照射後のリン脂質脂肪酸組成の変動も総脂肪酸の傾向と一致している。肝トリグリセリドの脂肪酸は $C_{16:0}$ と $C_{18:1}$ の2者が殆んどをしめ、血清との差は $C_{18:2}$ が僅かしかないことであり、照射群では $C_{16:0}$ の減少、 $C_{18:1}$ の増加が同様認められた。肝コレステロールの脂肪酸組成では、血清のそれと比較して $C_{20:4}$ が認められず、 $C_{18:2}$ も少なく、不飽和酸含量が少い。照射群では、 $C_{14:0}$ の増加が著しく、不飽和脂肪酸の減少が認められた。

これらから肝と血清の照射による変動を比較すると、両者で $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$ の減少、 $C_{18:0}$ 、 $C_{20:4}$ の増加と殆んど類似した変動がみられ、 $C_{18:2}$ の減少はコレステロールエステルに由来すること、また $C_{20:4}$ の変動は肝ではリン脂質、血清ではコレステロールエステルに起因することが示唆された。

6) 血清ならびに肝リン脂質分画の脂肪酸組成比と照射後の変動: 血清リン脂質の主成分はホスファ

チジルコリンで対照群、照射群で 78.9 ± 1.2 、 79.2 ± 3.0 の高組成比をしめた。またホスファチジルエタノールアミンは、それぞれ 2.0 ± 0.7 、 2.3 ± 0.8 で含量は微量であった。

血清ホスファチジルコリンの脂肪酸組成は表7に示すごとく、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ の両者で87%を占め不飽和脂肪酸は少なく、 $C_{20:4}$ は測定誤差範囲内であった。しかし照射後の組成比では $C_{16:0}$ の減少、 $C_{18:0}$ の上昇が認められた。

一方肝ホスファチジルコリンでは高級不飽和脂肪酸($C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ 、 $C_{20:4}$)が多く、明らかに血清のそれと区別されるが、照射後の組成比の変動は肝総リン脂質脂肪酸の変動と同傾向が示された。肝ホスファチジルエタノールアミンでは不飽和酸は $C_{18:2}$ にかわって $C_{22:6}$ が多く、照射による変動はみられなかった。他の脂肪酸の変動はホスファチジルコリンと同傾向を示した。

考 按

致死線量の全身照射後、経時的に血中脂質含量が増大することが知られている³⁰⁾。本実験においても1000rad照射後3日目の血清1ml単位当りの脂肪含量の増加がみられた。脂血症の著るしい兎においてElko et al¹⁶⁾は血清脂質の中でトリグリセリド、リン脂質、コレステロールの順に強い増加がみられたと報告し、これに対してラットでは照射後数時間ないし一日目に肝のトリグリセリドの減少がみられたとのべている³⁰⁾。血清中のトリグリセリドの大部分は肝で作られると考えられ²⁹⁾照射による脂血症の主因

TABLE 7. FATTY ACID COMPOSITIONS OF PHOSPHATIDYL-CHOLINE AND -ETHANOLAMINE FROM SERA AND LIVERS OF NORMAL AND X-RAY(1,000rad) IRRADIATED RATS.

Fatty acids	Relative percentages							
	Sera		Sera		Livers		Livers	
	Phosphatidyl-choline	Day 3 after exposure	Phosphatidyl-ethanolamine	Day 3 after exposure	Phosphatidyl-choline	Day 3 after exposure	Phosphatidyl-ethanolamine	Day 3 after exposure
14:0	3.2±0.5	4.2±1.6	11.2	4.2	1.2±0.3	0.8±0.4	0.2±0.1	0.2±0.1
16:0	49.1±3.9	43.4±3.0	55.2	48.5	30.2±1.4	23.7±3.0	26.3±2.0	20.9±1.8
16:1	1.1±0.9	2.1±0.9	2.8	2.5	2.3±0.5	0.3±0.1	0.6±0.2	0.4±0.1
18:0	38.1±3.5	43.5±2.5	17.8	27.6	23.6±0.4	33.8±1.9	26.6±1.9	32.2±3.0
18:1	4.6±2.1	3.5±1.0	7.7	2.9	12.2±1.0	4.8±0.7	6.7±0.4	3.2±0.7
18:2	3.9±2.0	3.4±0.3	2.0	6.2	13.6±1.0	11.2±1.4	6.0±0.8	5.4±0.8
20:4	-	-	3.2	8.0	12.1±1.8	20.0±2.7	19.0±1.4	23.2±1.7
22:6	-	-	-	-	4.8±0.9	5.4±1.4	14.7±1.0	14.6±2.8

をElko et al.²¹⁾は肝から血漿中への脂肪の移動増加と考えた。Agostini et al.²²⁾は照射ラットの脂肪組織からの脂肪酸の遊離を重要視している。本実験において血清総脂質の分画化より、トリグリセリドは激減しており、兎の場合と異なることが示され、トリグリセリド以外の脂質分画は何れも増加しており、遊離脂肪酸の増加率が高かった。しかし、量的にはコレステロールエステルの増加が総脂質量の増加の主因であることが示され、このことは脂肪酸組成分析におけるC_{20:4}の変動からも認められた。

Eberhagen, Horn²³⁾は1500R全身照射ラットで、短時間内では総脂質量の減少がみられ、その後増加して日単位の測定では増加がみられることを報告し、総コレステロールも同様の量的変化がみられたとしている。また総脂肪酸組成の分析では、脂質量減少時にはC_{16:0}、C_{18:0}、C_{18:1}、C_{18:2}の上昇、C_{20:4}の減少を見、増量時にはC_{16:0}、C_{18:1}の減少、C_{18:0}、C_{20:4}の増加をみている。また彼らはC_{20:4}の変化すなわち短時間後の減少、数日後の正常値への回復を注目している。本実験において、ラットの血清総脂肪酸組成の変動はC_{16:0}、C_{18:1}、C_{18:2}の減少、C_{18:0}、C_{20:4}の増加が認められ、彼らの示した傾向と一致する。しかしながらC_{16:0}、C_{18:0}、C_{18:1}の変化は各脂質分画脂肪酸において同様にみられるが、C_{20:4}の増加は各分画によって差がみられた。C_{20:4}は血清トリグリセリドに含まれず、血清リン脂質には低比率で存在するが照射による変動は見られず、血清におけるC_{20:4}の変化はコレステロールエステルに依存していることが示された。

血清リポタンパク中、コレステロールは主として肝から末梢組織への担送体として低密度リポタンパク(LDL)、末梢組織から肝への担送体として高密度リポタンパク(HDL)の型で存在する。Entenmann et al.⁶⁾はマウスで照射による血清リン脂質の上昇はHDLの増加が原因とし、Hewitt et al.⁷⁾は兎でLDL、HDLの増加をみている。しかしRehnborg et al.¹⁰⁾はマウスで照射にともないHDLはむしろ減少し、LDLは著るしく減少すると報告している。また本実験と同じ傾向のC_{18:0}、C_{20:4}の上昇、C_{18:1}の減少を少差であるが認め、この変化はLDLの量的減少に起因するもので、LDL自身の脂肪酸組成に変動はなかったと報告している。しかし彼らは脂質分画の脂肪酸組成の分析は行っていない。

本実験において血清コレステロール値は照射後一過性に増加することが認められた。しかもその変動

の主役はコレステロールエステルであることが示唆された。血清コレステロール含有量の変動は、兎では増加がみられたという報告^{9,16-18)}もあるが、一方的変動は少ないという報告^{11,19)}もみられている。しかしコレステロール合成組織である肝においては、兎でも軽度の変動しが認められていない¹⁶⁾ラット肝コレステロールの照射による減少はShelley,¹⁹⁾Gould et al.²¹⁾によって報告されている。血清コレステロールのもう一つの産生場所である腸は、400R~1200R照射後日単位の観察で、その量的変化はみられていない²⁰⁾肝におけるコレステロール合成実験より、コレステロールへの酢酸の取込みは、照射後その促進が示されており^{2,23)}合成能と含有量との間に相関性のないことが指摘された^{21,23)}この点についてBerndt・Gauert²³⁾はマウス肝で酢酸およびメバロン酸のコレステロールへの取込みを研究し、前者は照射後の取込みが20倍に、後者は5倍になることを認め、少なくとも合成過程の2ヶ所以上に照射の影響を受けることを示唆している。また肝、血清コレステロール値の測定を行い、遊離コレステロールは肝、血清とも殆んど変化は見られず、エステル型は血清では変化はなかったものの肝でのみ減少が認められたとしている。この様に肝における生合成の含量に相関性がみられない点について、代謝回転の促進が考えられるが²¹⁾今後更に究明する必要がある。本実験においても血清コレステロールエステルの脂肪酸組成と肝のそれとは明らかに異なっており、血清コレステロールエステルではC_{20:4}の含有比が照射後著しく増大した。肝の脂肪酸においても総血清脂肪酸でみられたと同様の変化がみられるものの、分画脂肪酸の分析からC_{20:4}の増加はリン脂質の脂肪酸変動に起因することが示された。このことから肝と血清との関連についてはコレステロールエステルの生理的役割の解明をもって更に究明されなければならない。

本論文は照射による血清脂質の変動の主役はコレステロールエステルの増加にあることを明らかにした。生体内に存在するエステル型コレステロールは3種類の酵素によって形成されるが、血中にはレシチン-コレステロールアシル転移酵素(LCAT)が存在するのみである^{24,25)}血清中のリン脂質の大部分はレシチンであり、ラット血清のLCATはC_{20:4}を撰択的に転移することが知られており²⁶⁾その酵素活性が問題となるが、血清レシチンは肝レシチンと異って不飽和度が低く、照射によってC_{20:4}の転移が行わ

れたとは考え難い。コレステロールエステルはコレステロール生合成の主要な役割をはたしていることは明らかであり^{36, 37)} またコレステロールを含むリポタンパクの異化をコレステロールをエステル化することによりリポタンパクリパーゼの作用を受け易くする³⁸⁾ こと、すなわち除去機構の促進があるのかも知れない。

放射線照射後、血清にみられる変化が全身障害を示すものか、あるいは回復に関連するものかどうかを検討する意味において、今後さらに血清の研究は重要である。

結 論

ラットのX線全身一回照射後の血清脂質における変動をコレステロール値ならびに脂質分画脂肪酸組成において検討し、あわせて肝脂質分画脂肪酸組成の変動と比較した。

1) ラット体重増加にともなうコレステロール値の増加がみられたが、増加率は遊離型よりエステル型の方が大であった。

2) X線(600rad)照射後、コレステロール値は経的に増加し、その後減少する一過性的変動が認められた。変動はエステル型の方が著しかった。X線(1000rad)照射後3日目のコレステロール値は対照群の1.8倍の増加をみた。この3日目の血清総脂質量は対照群の1.2倍であった。

3) 血清総脂質の薄層クロマトグラフィーによる画分で、コレステロールは40%の含有比が得られ、トリグリセリドのそれと同程度であった。照射後の画分的変動はトリグリセリドの減少とコレステロールの増加に左右され、血清総脂質の照射にともなう増加はコレステロールの増加に起因することが示唆された。

4) 血清総脂肪酸では照射により不飽和脂肪酸の若干の減少がみられた。総脂肪酸の組成比は、照射によりC_{16:0}、C_{18:1}、C_{18:2}の減少、C_{18:0}、C_{20:4}の増加

が認められた。

分画脂肪酸の組成検討を行った結果、リン脂質ではC_{20:4}の含有化が低く、照射による変動もみられず、トリグリセリドではC_{20:4}は極く微量であった。リン脂質、トリグリセリドともに不飽和脂肪酸の減少、飽和脂肪酸の増加がみられた。一方コレステロールエステルでは不飽和脂肪酸、特にC_{20:4}の増加が著しかった。C_{18:1}の照射による減少は全脂質分画に共通して認められた。総脂肪酸組成におけるC_{18:2}の減少、C_{20:4}の増加はコレステロールエステルの照射にともなう変動が主因と考えられた。

5) 肝は血清リポタンパク、特にコレステロールの主生産組織であることから肝脂肪酸組成の分析を行った。肝総脂肪酸でも照射によりC_{16:0}、C_{18:1}の減少、C_{18:0}、C_{20:4}の増加と、血清のそれと同傾向の変動が観察されたがC_{18:2}の変動は示されなかった。

肝脂質分画の脂肪酸組成は、血清と明らかに異なり、照射によるC_{20:4}の増加はリン脂質分画に起因することが示唆された。コレステロールエステルでは、C_{18:2}も低比率でC_{20:4}は微量であることが示され、照射により短鎖脂肪酸が増加した。

6) 血清リン脂質の大部分はホスファチジルコリンが占め、不飽和脂肪酸含有比は少なかった。一方肝リン脂質のホスファチジルコリン、エタノールアミンは不飽和脂肪酸量が高く、これらリン脂質の脂肪酸組成の照射による変動は、総リン脂質脂肪酸の変動に準じていた。

本実験は岡山大学医学部放射線医学教室で行ったものである。

稿を終るにあたり、本研究遂行に際し、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜った岡山大学医学部放射線医学教室山本道夫教授、および恩師西嶋克巳教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、格別な御指導、御助力下さった山本剛禧博士に深く感謝致します。

文 献

1. 内藤周幸：リポ蛋白による脂質代謝調節。代謝, **13**, 775-784, 1976.
2. Morrissett, J. D., Jackson, R. L., Gotto Jr, A. M.: Lipoproteins: Structure and function. *Annu. Rev. Biochem.* **44**, 183-207, 1975.
3. 西下創一, 平木祥夫, 杉田勝彦: 放射線照射の血清蛋白に及ぼす影響。岡山医学会誌, **73**, 1167-1173, 1966.

4. 江原一彦: Walker-256-Carcinosarcoma移植ラット及び健康ラットにおよぼす放射線照射の影響—特に血清蛋白質への影響について. 岡山医学会誌, **90**, 59-68, 1978.
5. DiLuzio, N. R. and Simon, K. A.: The effect of X-irradiation on the plasma lipid fractions of the rabbit. *Radiat. Res.* **7**, 79-84, 1957.
6. Entenman, C., Neve, R. A., Supplee, H. and Olmsted, C. A.: Effects of X-irradiation on lipid metabolism. I. plasma phospholipid levels in several species. *Arch. Biochem. Biophys.* **59**, 97-105, 1955.
7. Hewitt, J. E. and Hayes, T. L.: X-irradiation and lipoprotein metabolism in various species. *Am. J. Physiol.* **185**, 257-264, 1956.
8. Rosenthal, R. C.: Opalescence of serum after total X-irradiation as a prognostic sign of death. *Science* **110**, 43-45, 1949.
9. Elko, E. E. and DiLuzio, N. R.: Lipid mobilization in X-irradiated rabbits. *Radiat. Res.* **14**, 760-766, 1961.
10. Rehnberg, C. S., Ashikawa, J. K. and Nichols, A. V.: Comparison of the effects of whole-body X-irradiation and fasting on the plasma lipids of mice. *Radiat. Res.* **16**, 860-866, 1962.
11. Koike, H. and Koike, N.: Studies on changes in blood lipids induced by roentgen irradiation. *Osaka City Medical J.* **11**, 175-223, 1965.
12. Eberhagen, D. and Horn, U.: Die Lipid veränderungen in verschiedener Rattenorganen nach Ganzkörperbestrahlung mit letalen Röntgendosen VI. Das Verhalten der Fettsäurezusammensetzung im Blutserum und in der Milz. *Strahlentherapie* **135**, 364-370, 1968.
13. Haude, W., Mohr, F., Hartmann, D. and Goetze, E.: Untersuchung der Lipide in mütterlicher und foetaler Leber und der unveresterten Fettsäuren trächtigen Ratten mit 800R. *Acta Biol. Med. Germ.* **22**, 259-268, 1969.
14. Ablers, I., Ahlersova, E., Sedlakova, A. and Praslicka, M.: Tissue lipids in lethally X-irradiated rats. I. Changes in serum, liver, white and brown adipose tissue. *Folia Biol. (Praha)* **19**, 124-129, 1973.
15. Goldwater, W. H. and Entenman, C.: Effect of X-irradiation on lipid metabolism. III. Dog serum lipoproteins. *Radiat. Res.* **4**, 243-256, 1956.
16. Elko, E. E. and DiLuzio, N. R.: Effect of X-irradiation on plasma, liver and bone marrow lipids of the rabbit. *Radiat. Res.*, **11**, 1-6, 1959.
17. Shkhinek, E. K.: Effects of whole-body X-ray irradiation on cholesterol content in blood serum of dogs and rabbits. *Radiobiologia*, **2**, 21-29, 1962.
18. Elko, E. E. and DiLuzio, N. R.: Plasma lipid metabolism in X-irradiated rabbits. *Radiat. Res.* **12**, 432-433, 1960.
19. Shelley, R. N.: The effect of ionizing radiations on cholesterol levels of adrenals, liver and plasma. *Radiat. Res.* **29**, 608-613, 1966.
20. 武内望: コレステロールと胆汁酸の代謝調節. 代謝, **13**, 785-794, 1976.
21. Gould, R. G., Bell, V. L. and Lilly, E. H.: Stimulation of cholesterol biosynthesis from acetate in rat liver adrenals by whole body irradiation. *Amer. J. Physiol.* **196**, 1231-1237, 1959.
22. Bucher, N. L. R., McGarrah, K., Gould, E. and Loud, A. V.: Cholesterol biosynthesis in preparations of liver from normal, fasting X-irradiated, cholesterol fed, triton or Δ^4 cholesterol-3-one treated rats. *J. Biol. Chem.* **234**, 262-267, 1959.
23. Berndt, J. and Gaumert, R.: The in vitro biosynthesis of cholesterol and the cholesterol content in the liver of X-irradiated mice. *Radiat. Res.* **42**, 292-304, 1970.

24. Zak, B., Dickenmann, R. C., White, E. G., Burnett, H. and Cherney, P. J.: Rapid estimation of free and total cholesterol. *Amer. J. Clin. Pathol.* **24**, 1307-1315, 1954.
25. Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509, 1957.
26. Skipski, V. P. and Barclay, M.: Thin-layer chromatography of lipids. *Method in Zymology* (ed. Lowenstein, J. M.), Vol. XIV, *Academic Press, New York and London*, 530-598, 1969.
27. 大橋茂: ラット切歯歯髓における脂質分画の脂肪酸組成とコレステロールにおよぼす放射線照射の影響. 岡山医学会誌, 第91巻1.2号掲載予定.
28. Stoffeel, E. C. and Ahrens, E. H.: Analysis of long-chain fatty acids by gas-liquid chromatography. Micromethod for preparation of methyl esters. *Anal. Chem.*, **31**, 307-308, 1959.
29. Havel, R. J., Felts, J. M. and Van Duynes, C. M.: Formation and fate of endogenous triglycerides in blood plasma of rabbits. *J. Lipid Res.* **3**, 297-308, 1962.
30. Streffer, C.: 放射線生化学 (山田武, 大山ハルミ共訳), 図書出版社, 東京, 1973.
31. Elko, E. E., Wooles, W. R. and DiLuzio, N. R.: Effect of whole-body X-irradiation on palmitate-1-C¹⁴ metabolism in the rabbit. *Radiat. Res.* **21**, 493-500, 1964.
32. Agostini, C., Sessa, A., Fenaroli, A. and Ciccarone, P. A.: Production of "fatty livers" by X-irradiation. *Radiat. Res.* **23**, 350-356, 1964.
33. Vinogradova, M. F.: Lipid and cholesterol biosynthesis in small intestine and lungs of irradiated rats. *Radiobiologiya* **7**, 179-183, 1967.
34. 赤沢安夫: LCATによるコレステロールエステル の 生 合 成. 脂質の代謝, 日本生化学会編生化学実験講座 東京化学同人, 東京, **9**, 154-162, 1975.
35. Brown, M. S. and Goldstein, J. L.: Receptor mediated control of cholesterol metabolism. *Science* **191**, 150-154, 1976.
36. Glomset, J. A.: Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase. *Am. J. clin. Nutr.* **23**, 1129-1136, 1970.
37. Anderson, J. M. and Dietschy, J. M.: Cholesterogenesis: Derepression in extrahepatic tissue with 4-aminopyrazols [3,4-d] pyrimidine. *Science* **193**, 903-905, 1976.
38. Goodman, Z. D. and Lequire, V. S.: Transfer of esterified cholesterol from serum lipoproteins to the liver. *Biochim. Biophys. Acta* **398**, 325-336, 1975.

**Changes in cholesterol content and fatty acid composition
of serum lipid in irradiated rat**

Shigeru OHASHI

Department of Oral Surgery, Okayama University Medical School,

Okayama, Japan (Prof. K.Nishijima)

(Director : Prof. M.Yamamoto)

Department of Medical Radiology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

The effect of single dose whole body irradiation on the serum cholesterol content and fatty acid composition of serum lipids of rats was investigated. A change in fatty acid composition of liver lipid was also observed.

- 1) The serum cholesterol content increased in parallel with the increase in body weight. The change in cholesterol ester was more marked than that of free cholesterol.
- 2) After 600 rad irradiation, cholesterol content increased, reached maximum 3 days after irradiation, and then decreased.
This temporary increase was due to cholesterol ester.
- 3) Cholesterol and triglyceride both accounted for about 40%, as measured by color determination on thin-layer chromatography. After irradiation, an increase in cholesterol content and the marked decrease in triglyceride content were observed bringing about a change in the amount of total serum lipid.
- 4) The fatty acid composition of normal and irradiated rat sera were compared. The relative percentages of total lipid of palmitic and oleic acids decreased while those of stearic and arachidonic acid increased. Serum phospholipid had little arachidonic acid and the fatty acid composition did not change after irradiation. Serum triglyceride had trace amounts of arachidonic acid and the unsaturated fatty acid component decreased after irradiation. On the other hand, unsaturated fatty acid in cholesterol ester increased after irradiation while linoleic and arachidonic acids made up 29% and 22% in control and 17% and 61% after irradiation, respectively. These results indicate that after irradiation the amount of oleic acid decreased in all lipid fractions, and that the decrease in linoleic acid and the increase in arachidonic acid after irradiation were due mainly to changes in the amounts of the cholesterol ester of these fatty acids.
- 5) Fatty acid composition of total liver lipid after irradiation showed a decrease in palmitic and oleic acids and an increase in stearic and arachidonic acids, the same trend as observed in serum lipid fatty acid. Liver cholesterol ester showed trace amounts of linoleic and arachidonic acids and an increase in short chain fatty acid after irradiation.
- 6) The major component of serum phospholipid was phosphatidylcholine, while palmito-stearyl lecithine and unsaturated fatty acid were small components. Moreover, phosphatidylcholine and -ethanolamine were the major components of liver phospholipid, having highly unsaturated fatty acids. The changes in fatty acid composition were similar to the changes in total phospholipids.