

牛乳摂取による血漿リポ蛋白組成の変動

信州大学医学部保健学科検査技術科学	日 高 宏 哉
信州大学医学部医学科病態解析診断学	本 田 孝 行
信州大学医学部附属病院臨床検査部	戸 塚 実
	山 内 一 由
	石 川 伸 介
信州大学医学部医学科病態解析診断学	勝 山 努

要 旨

動物脂肪の摂取過多が、血漿中の脂質の上昇すなわち高脂血症を引き起こし、さらに動脈硬化症を発症することは明らかである。そのため、牛乳の摂取が、肥満や血中脂肪の増加と関連があるのではというネガティブな印象を与えている。以前の牛乳摂取実験において、通常量の摂取では血漿脂質濃度の上昇はほとんど認められないと報告されている。しかしながら、牛乳摂取実験の多くはその摂取量と血漿脂質濃度との関係を論じたもので、牛乳の摂取が血漿中のリポ蛋白に及ぼす影響についての詳細は明らかでない。

今回、我々は通常脂肪牛乳と無脂肪牛乳の摂取による血漿リポ蛋白の量的および質的な変動を検討し、牛乳摂取の脂質代謝への影響を検討した。本研究により、健常人において通常脂肪牛乳摂取（1日、500mlを2週間摂取）では、血漿脂質濃度および組成に大きな差は認められなかったが、血漿脂質中の不飽和脂肪酸比率が増加し、組成の変化が認められた。また、無脂肪牛乳摂取群では、血漿中の中性脂肪（TG）の減少やLDL粒子サイズの改善傾向が認められ、apoEの変動は認められなかったことから、TG代謝の改善およびLDLの小粒子化抑制に影響することが考えられた。

Key words：リポ蛋白、コレステロール/TG染色、ガスクロマトグラフィー質量分析（GC-MS）、脂肪酸組成、LDL粒子サイズ、血液レオロジー、中性脂肪（トリグリセライド）

はじめに

牛乳の摂取においてネガティブな印象を与える要因として、肥満や血中の脂肪が増加するなどの脂肪摂取の影響が考えられる。事実、動物脂肪の摂取量の過多が血漿中の脂質の上昇すなわち高脂血症を引き起こし、さらに動脈硬化症を発症することは明らかである。しかしながら、ヨーグルトを多く摂取することやエスキモーのように脂肪食を多く摂取する生活習慣を持っている民族で、かならずしも動脈硬化を引き起こさないことが報告されている。このことは食事性脂肪の組成により血中の脂質組成が影響をうけ、そ

の組成によっては、脂質が必ずしも高脂血症や動脈硬化発症の引き金とはならないと考えられる。

以前の牛乳摂取実験においては、通常量の摂取では血漿脂質濃度の上昇はほとんど認められないと報告されている。しかしながら、牛乳摂取実験の多くはその摂取量と血漿脂質濃度との関係を論じたものが多く、牛乳の摂取が血漿中の脂質により構成されるリポ蛋白に及ぼす影響についての詳細は明らかでない。

我々は、以前より臨床検査の立場から各種血漿脂質成分の分析を行ってきた。血漿脂質はそのほとんどがアポ蛋白と結合してリポ蛋白として存在する。このリポ蛋白は物理化学的性質が不均一であり、脂質の代謝や生理機能に大きな影響を及ぼしている。すなわち、脂質の量的な変動だけでなく脂質が構成するリポ蛋白の質的な変動を捕らえることが血漿中での脂質代謝を把握するために重要であると考えられる。

本研究の目的は、牛乳摂取による血漿リポ蛋白の量的および質的な変動を検討し、牛乳摂取の脂質代謝への影響を検討することである。作業仮説として、食事性脂肪の組成により血中の脂質は高脂血症や動脈硬化の発症に強く関与する組成に変化されないことを証明することである。すなわち、牛乳摂取により血漿中リポ蛋白が高脂血症や動脈硬化症に関連するリポ蛋白に質的な変化を引き起こさないとすると、牛乳脂肪の摂取が高脂血症や動脈硬化症の発症に影響しないことが考えられる。

倫理委員会

本研究は以下に示す手続きにより行なった。

- 1) 研究計画書の作成および共同研究者と打ち合わせを行なった。
- 2) 信州大学医学部倫理委員会に研究課題「牛乳摂取による血漿リポ蛋白組成の変動」を申請。受付番号430にて承認された。
- 3) ボランティアの被験者に研究内容を説明書にて説明し、承諾を紙面（同意書）にて得た。

材料、方法

1. 材 料

牛乳：通常脂肪牛乳のメグミルク牛乳（無脂乳固形分8.3%以上、脂肪分3.5%以上）と対照として無脂肪牛乳であるメグ無脂肪牛乳（無脂乳固形分8.3%以上、脂肪分0.1%）を用いた。主な組成は、表1に示した。

2. 牛乳摂取試験のプロトコール

被験者10名を5人ずつの2グループに分け、一方のグループは通常脂肪牛乳（Fat群）を、もう一方のグループは無脂肪牛乳（Non fat群）を毎日500mlずつ2週間にわたり摂取し、1週間毎に採血し検査を行なった。

表1 牛乳成分一覧

牛乳100g 中成分	エネルギー (kcal)	水分 (g)	蛋白質 (g)	脂質 (g)	糖質 (g)	食物繊維 (g)	灰分 (g)	Ca (mg)
通常脂肪牛乳	66.5	87.6	3.25	3.6	4.8	0.0	0.7	113.5
無脂肪牛乳	31	91.6	3.2	0.1	4.4	0.0	0.7	94

プロトコールは、牛乳摂取実験の開始前（各自が日常の食事）に1回目の採血を行なった後、食事は通常通りだが牛乳摂取を一週間中止し、2回目の採血を行なった。牛乳摂取の開始から一週間後に3回目、牛乳摂取の開始から2週間後に4回目、その後一週間は牛乳摂取を中止し5回目の採血を行なった（図1）。

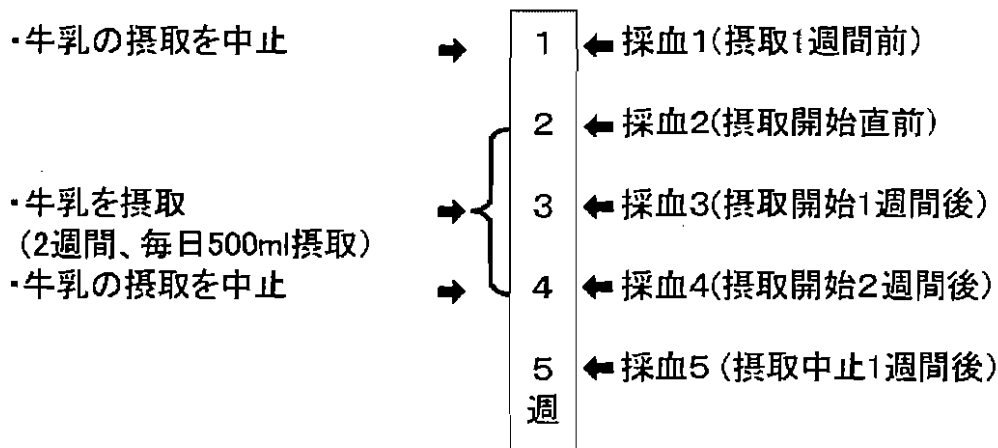


図1 牛乳摂取試験のプロトコール

3. 測定方法

健常人について牛乳摂取による血漿中リポ蛋白の量的および質的な変動を以下のような方法を用いて分析した。

1) 血漿脂質濃度の測定

血漿脂質濃度の測定は、生化学自動分析装置BioMajesty JCA-BM2250（日本電子）を用い、血漿中総コレステロール（TC）、トリグリセライド（TG）およびリン脂質（PL）は酵素法で測定した。血漿中高比重リポ蛋白コレステロール（HDL-C）および低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）は生化学自動分析装置によるホモジニアス法にて測定した。また、他の生化学項目は日常検査法にて測定した。

2) アポ蛋白濃度の測定

血漿中アポリポ蛋白、すなわちアポ蛋白A-I（apoA-I）、アポ蛋白A-II（apoA-II）、アポ蛋白B

(apoB)、アポ蛋白C-II (apoC-II)、アポ蛋白C-III (apoC-III)、アポ蛋白E (apoE) 濃度は、生化学自動分析装置を用いて免疫比濁法（第一化学薬品）により測定した。

3) リポ蛋白分画の測定

血漿中リポ蛋白の分画は、コレステロール染色およびトリグリセライド染色試薬を用いてアガロース電気泳動法により行なった。分析方法は4分画法で行なった。

(1) アガロースゲル電気泳動法/脂質染色法

電気泳動ゲルはREP-LIPOアガロースゲルプレート、TG試薬（コレトリトンポTG）、コレステロール試薬（タイタンSコレステロール）を用いて、REPsystemによる電気泳動を行なった（ヘレナ研究所）。アガロースゲル上で対になるような位置の試料溝（2溝/検体）に検体を1 μ l塗布して、400V、15分間電気泳動し、用時調製したコレステロールおよびTG試薬によりコレステロール染色とTG染色を行なった。その後5%酢酸で反応停止させ、水で洗浄してアガロースゲルを56°Cで乾燥させた。

(2) 4分画法

リポ蛋白は、デンストメトリーを用いて泳動後のゲルを波長570nmでスキャンした。各リポ蛋白の分画位置は、4分画法で行なった。コレステロール染色による β 分画の頂点の位置を決め、塗布点側（陰極側）から β 分画の頂点までのピークの面積と等しくなるように、頂点から陽極（pre β 側）側の位置を β 分画の分画点とした。次にTG染色によるpre β 分画の頂点の位置を決め、 α 分画側（ α とpre β の谷間）からpre β 分画の頂点までのピークの面積と等しくなるように、頂点から陰極側（ β 分画側）の位置をpre β 分画の分画点とした。Pre β と β 分画の間をmidbandとした。2つの波形を重ね、陰極側から β （LDLに相当）、midband（IDL：中間比重リポ蛋白に相当）、pre β （VLDLに相当）、 α 分画（HDLに相当）とした。

4) リポ蛋白の粒子サイズの分析

LDLの粒子サイズを測定するために、変性剤を含まないNative-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（Native-PAGE）を行ない、コレステロール染色によりLDLを検出した。

Native-SDS-PAGEゲルは2~16%グラジエントゲル（テフコ、東京）を用い、水槽中で冷却しながら一晩電気泳動（5mA）した。サンプル処理液は泳動用緩衝液にグリセリンを10%、及びBPBを加えたものもちい、検体1に対し2の割合で用いた。蛋白分子量マーカーには、ミオシン;212kDa、 α 2-マクログロブリン;170kDa、 β -ガラクトシダーゼ ;116kDa、トランスフェリン ;76kDa、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ ;53kDa（ファルマシア）を用いた。泳動後、蛋白分子量マーカーは蛋白染色（コマジープルー-R250）、検体はコレステロール染色酵素キット（タイタンSコレステロール）で染色を行なった。粒子サイズの計測は、泳動後のゲルをスキャンしマーカーの泳動距離から検量線を作成し、LDLの泳動距離を測り検量線から粒子サイズを求めた。

5) リポ蛋白粒子の脂質組成

リポ蛋白粒子の脂質組成を超速心分離法に分取して検討した。

血漿0.5mlに水1mlを重層してベックマン超遠心機により20,000rpm、5分間の遠心分離で上層（カイロマイクロン：CM）を分取した。下層を比重1.006として100,000rpm、20時間の遠心分離で上層（VLDL）を分取し、その下層の比重を1.019として、同条件で遠心分離して上層（IDL）を分取した。その下層の比重を1.063として、同条件で遠心分離して上層（LDL）を分取した。さらにその下層の比重を1.21として、同条件で遠心分離して上層（HDL）を分取した。

6) 脂質中脂肪酸組成

血漿脂質中の脂肪酸組成を測定するために、血漿を脱脂した後に脂質のメチル化を行ない、ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）で脂肪酸を測定した。

(1) 血漿脂質の脱脂とメチル化

ガラス試験管に血漿50 μ lを分取し、エタノール/エーテル（3:2）混液1mlを加えて激しくよく混和して、2000rpmで5分間遠心分離した。上清0.5mlをキャップ付き耐熱ガラス試験管に入れ、窒素ガスを吹き付け乾固した。そこに0.5 mol/l 塩酸-メタノール（和光純薬工業）を0.5ml入れマイクロウエーブで1分30秒間加熱し、冷却した。次いで塩酸-メタノールと同量のヘキサンを入れ激しく振とうし、さらに水を1滴加え振とう後2000rpm、5分間遠心分離した。その上清（ヘキサン層）を別のガラス試験管に取り窒素ガスで乾固してアセトンを0.1ml加えた。

(2) ガスクロマトグラフィー質量分析（GC-MS）

GC-MSは、GC部はGC-2010、MS部はGCMS-QP2010、オートインジェクターはAOC20i（ともに島津製作所）を用いて、ヘリウムをキャリアガスとして分析した。GC分析の昇温プログラムはオープン温度が80.0 $^{\circ}$ Cから開始し、80.0 $^{\circ}$ Cで2分間ホールドした後1分間に15 $^{\circ}$ Cずつ上昇して150 $^{\circ}$ Cに達すると1分間保持した。さらに1分間に8 $^{\circ}$ Cずつ上昇して250 $^{\circ}$ Cまで上昇させた。MSはGCの温度が上昇し始めて3分後から検出を始め、GC開始時より30分間行なった。

(3) GC-MSによる脂質の分析

メチル化試料1 μ lをオートインジェクターによりスプリット方式で添加し、試料気化室（280.0 $^{\circ}$ C）でガス化された後、キャピラリーカラム（長さ15m、内径：25 μ m、膜厚：0.1 μ m）の中を通過させ成分ごとに分離した。GC-MSスペクトルの解析では、GCによって分離された成分を電子衝撃法でイオン化し、親イオンと解裂イオンのマススペクトルを得た。GC-MSのマススペクトルは横（x）軸に保持時間（Retention time；Rt）、縦（y）軸にマススペクトルイオン強度の総和で表示した。マススペクトルの同定はコンピュータに内蔵されていたデータベース（NIST147.LIB、NIST 27.LIB）のシミュラリティ検索により行ない、イオンマススペクトル組成の一致率が高い化合物一覧と個々のRtと化合物間のRtの関連から脂肪酸を同定した。

7) 血液レオロジー

血液流動性（サラサラ度）を測定する微小循環モデル測定装置を用いて、血液レオロジーを測定した。

シリコン単結晶基板上に微細なV字溝（流路深4.5 μ m、流路幅7 μ m、流路長30 μ m、流路本数

8736本；bloody6-7)を並列配置し、光学研磨したガラス基板と圧着させた毛細血管モデル（マイクロチャネルアレイ）に、血液100 $\mu\ell$ が20cm水柱圧力差で通過する時間（血液通過時間）を測定した。マイクロチャネルアレイを組み込んだホルダーを微小循環モデル測定装置（MC-FAN）本体にセットし、ホルダー内に全血200 $\mu\ell$ を注入して一定の圧力差の下で、マイクロチャネルアレイを通過させた。100 $\mu\ell$ 通過した時点で終了とする。得られた血液通過時間は、全血試料測定の直前に測定された生食100 $\mu\ell$ の通過時間を用いて、補正式

$$\text{補正式} = (\text{血液通過時間}) \times 12 \text{秒} / (\text{生食通過時間})$$

により生食通過時間が12秒の場合に換算した。評価は血液通過時間（客観的評価）と画像（主観的評価）によって行なった。

結 果

1. 血漿脂質濃度の測定研究目的

通常脂肪牛乳摂取群と無脂肪牛乳摂取群の血漿脂質の変動を検討した。通常脂肪牛乳摂取群で、摂取直前と摂取2週間後の値を比較すると血漿TC、TG、PL、HDL-C、LDL-Cのいずれも有意な差は認められなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では摂取直前と摂取2週間後を比較すると、HDL-Cの変動はほとんどなく、TG、PLにおいて低下傾向を示したがいずれも有意な差は認められなかった。（図2、図3）。

2. アポ蛋白濃度の測定

血漿アポ蛋白組成として、apo-A I、apo-A II、apoB、apoC-II、ApoC-III、apoE濃度を測定した。通常脂肪牛乳および無脂肪牛乳を摂取した両群ではapo-A、apo-A II、apoB、apoC-IIにほとんど変化が見られなかったが、ApoC-III、apoEにおいて摂取直前と摂取2週間後の値を比較するとApoC-IIIは両群とも有意に上昇し、apo-Eは通常脂質牛乳群で有意な上昇を認めた（図4）。

3. 4分画法によるリポ蛋白分画の変動

血漿リポ蛋白分画の変動をアガロース電気泳動とコレステロールおよびトリグリセライド染色法を用いた方法により行ない、 α 、pre β 、midband、 β （各々HDL、VLDL、IDL、LDLに相当）の4分画として分析した。

図には示さなかった（データは省略した）が、普通脂肪牛乳摂取群では、HDL分画のTGがわずかに低下傾向を示した。しかしTG/TC比はほとんど変化がなかった。また、VLDL、IDL分画やLDL分画では、個人による変動が大きく群としての傾向は認められなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では、HDL-TGとVLDL-TG濃度が有意に低下していた（図5）。また、LDL-TGも低下傾向を示したが、IDL-TGはわずかに上昇傾向にあった。

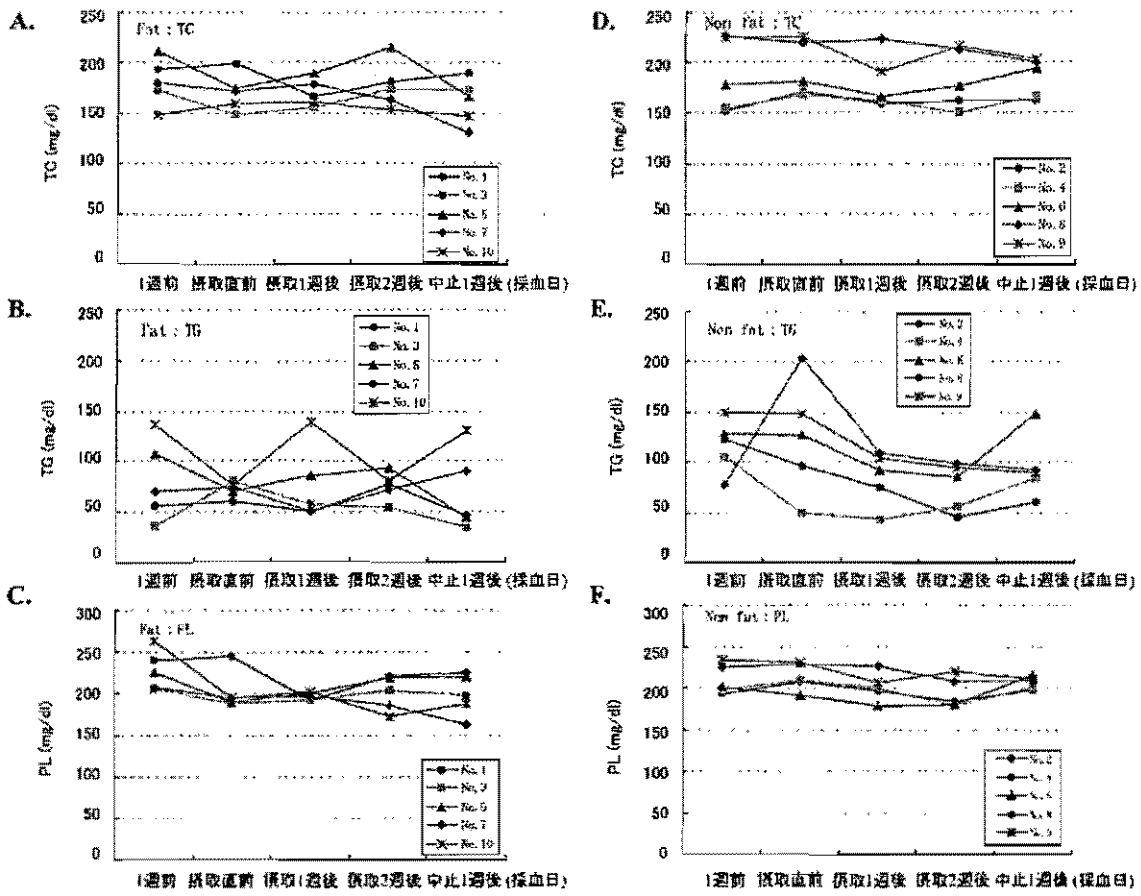


図2 牛乳摂取による血清脂質濃度の変動 (TC、TG、PL)

A-C: 通常脂肪牛乳摂取群、D-F: 無脂肪牛乳摂取群、A,D: TC、B,E: TG、C,F: PL

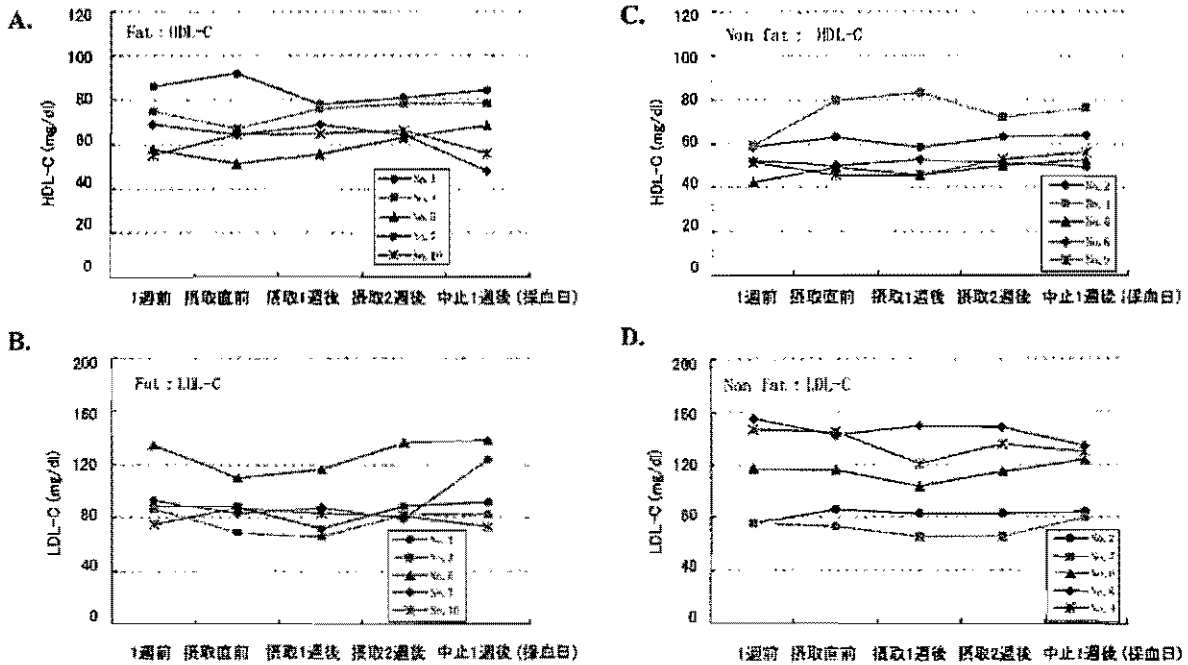


図3 牛乳摂取による血清脂質濃度の変動 (HDL-C、LDL-C)

A, B: 通常脂肪牛乳摂取、C, D: 無脂肪牛乳摂取、A, C: HDL-C、B, D: LDL-C

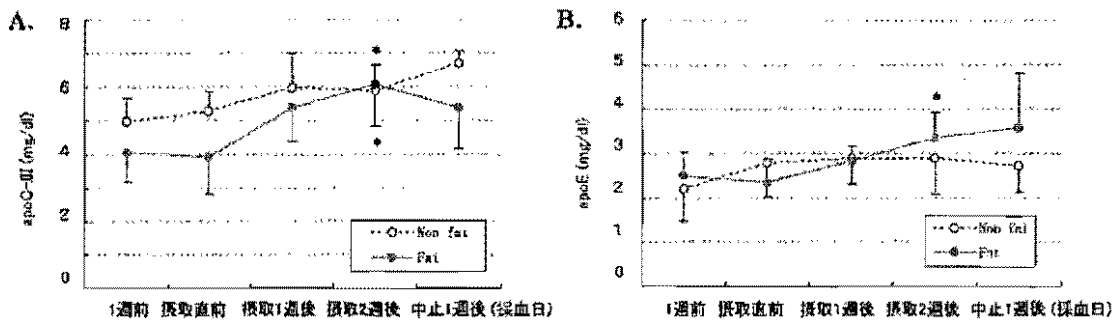


図4 牛乳摂取によるapoC-IIIとapoEの変動

A: apoC-III、B: apoE、●: 通常脂肪牛乳摂取、○: 無脂肪牛乳摂取、*: p<0.05 (摂取直前と比較)

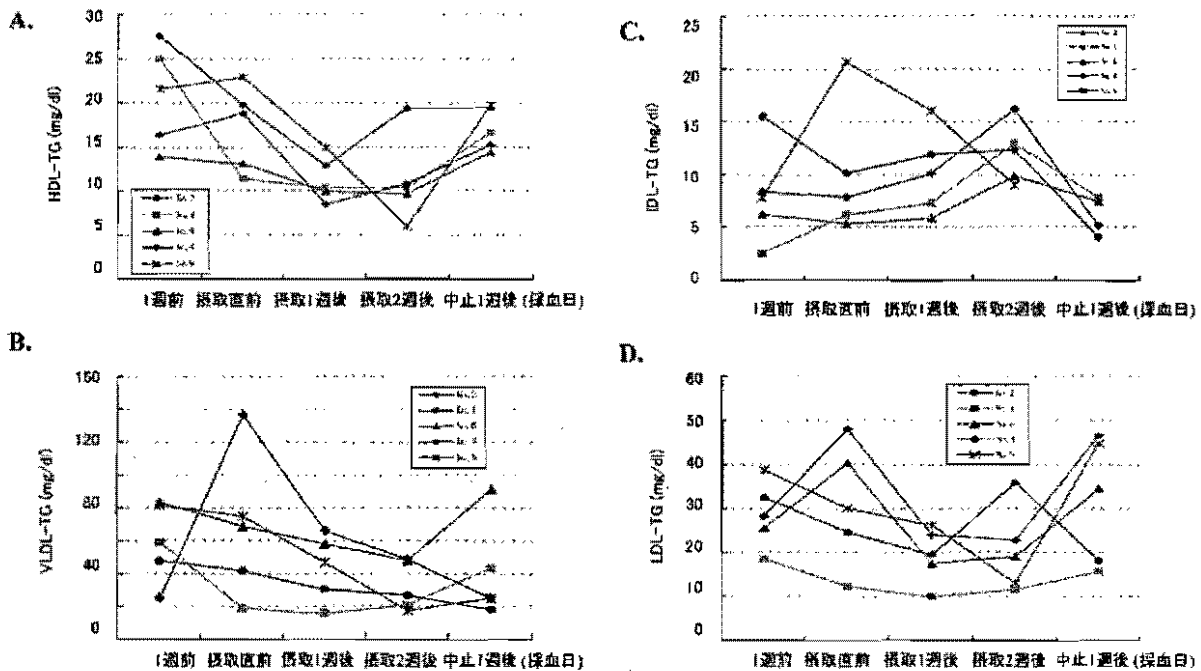


図5 無脂肪牛乳摂取群の各リポ蛋白分画におけるTG濃度の変動

A: HDL-TG、B: VLDL-TG、C: IDL-TG、D: LDL-TG

4. リポ蛋白の粒子サイズの分析

LDLの粒子サイズは、変性剤を含まないNative-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) により分離した後、コレステロール染色により測定した。通常脂肪牛乳摂取群のLDL粒子サイズの変化はほとんどなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では、LDL粒子サイズが大きくなる傾向を示したが統計的には有意差は得られなかった (図6)。

5. リポ蛋白粒子の脂質組成

LDLの脂質組成の変動を検討した。LDLは超遠心分離法により調製した。

通常脂肪牛乳摂取群と無脂肪牛乳摂取群の両者でLDLの脂質組成比はコレステロール比率が上昇し、TG比率は減少傾向にあったが統計的には有意差は得られなかった (図7)。

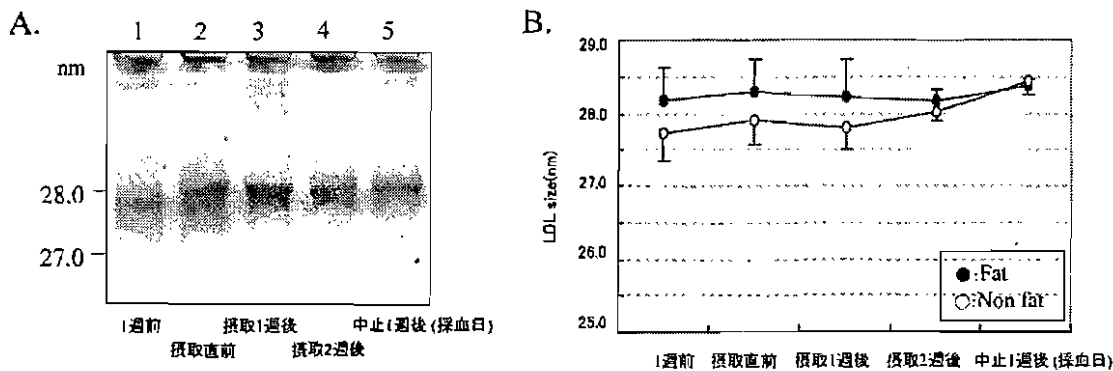


図6 Native PAGEによる電気泳動像(検体No.10)とLDL粒子サイズの変動

A: 検体(No.10)血清をNative PAGEで分離した後のコレステロール染色像、B: 通常脂肪牛乳摂取群(●)と無脂肪牛乳摂取群(○)のLDLサイズの変動

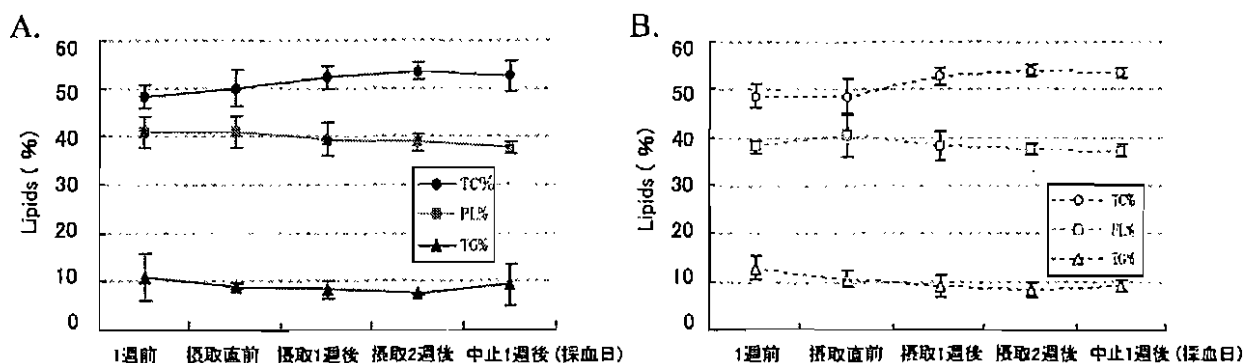


図7 LDL粒子の脂質組成比

A: 通常脂肪牛乳摂取群、B: 無脂肪牛乳摂取群、●、○: TC (%), ■、□: PL (%), ▲、△: TG (%)

6. 血液レオロジー (サラサラ度)

牛乳摂取による血液流動性の変化を測定した。血液流動性は微小循環モデルを用いた血液レオロジー、いわゆる血液サラサラ度として測定した。

採血方法は、採血からの時間経過において安定であったノボヘパリン採血にヘパリンナトリウム溶液(1000単位/ml: ノボヘパリン注1000)を添加して5%のヘパリン量として行なった。参考基準範囲は男性 39.7 ± 7.7 、女性 36.4 ± 5.1 秒とした。

普通脂肪牛乳摂取群における血液通過時間は、摂取後に若干延長傾向を示したもののほとんど変化は認められなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では、摂取するにつれ血液通過時間は短縮する傾向を認めた(図8)。

7. 血漿脂質中脂肪酸組成

1) 血漿脂質中脂肪酸のGC-MSパターン

血漿の総脂質における脂肪酸組成を検討した。GC-MSのマスペクトルパターン(図9)から、パルミチン酸が全体の30%、リノール酸が25%、オレイン酸が20%、コレステロールが10%程検

出された。その他に少量ながらミリステン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、ドコサヘキサエン酸 (DHA) が検出された。

2) 血漿脂質中の脂肪酸組成比率 (図10)

牛乳摂取前後の血漿中脂肪酸組成を測定した。

通常脂肪牛乳摂取群では、パルミトオレイン酸、アラキドン酸、DHAで有意な増加が認められたが、他の脂肪酸では大きな変動がなかった。また無脂肪牛乳摂取群ではいずれも有意差はなかった。

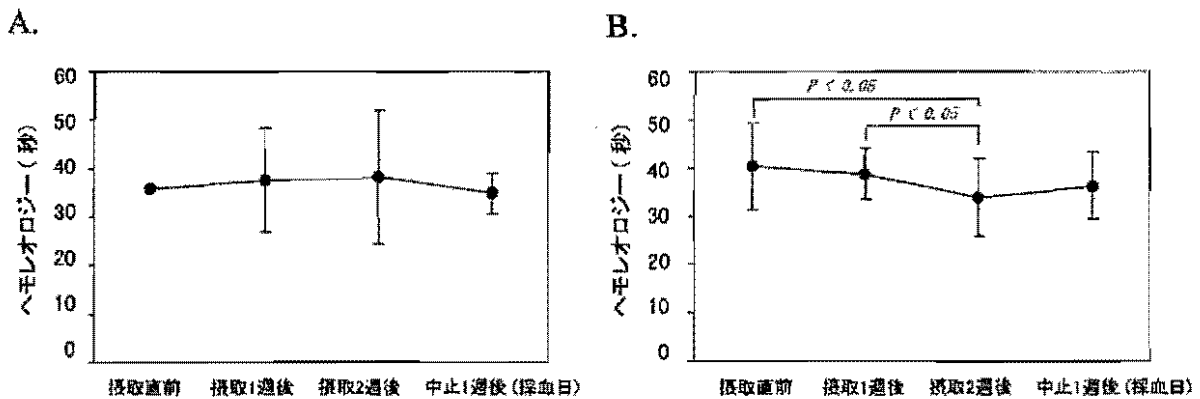


図 8 血液レオロジーの変動

A: 通常脂肪牛乳摂取群、B: 無脂肪牛乳摂取群、●: TC (%), ■: PL (%), ▲: TG (%)

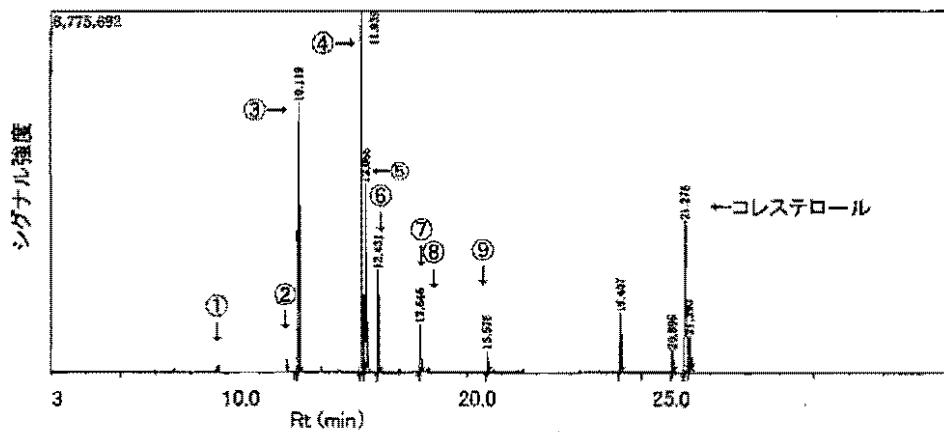


図 9 GC-MSによる血清脂質の脂肪酸組成

①ミリステン酸、②パルミトオレイン酸、③パルミチン酸、④リノール酸、⑤オレイン酸、⑥ステアリン酸、⑦アラキドン酸、⑧EPA、⑨DHA

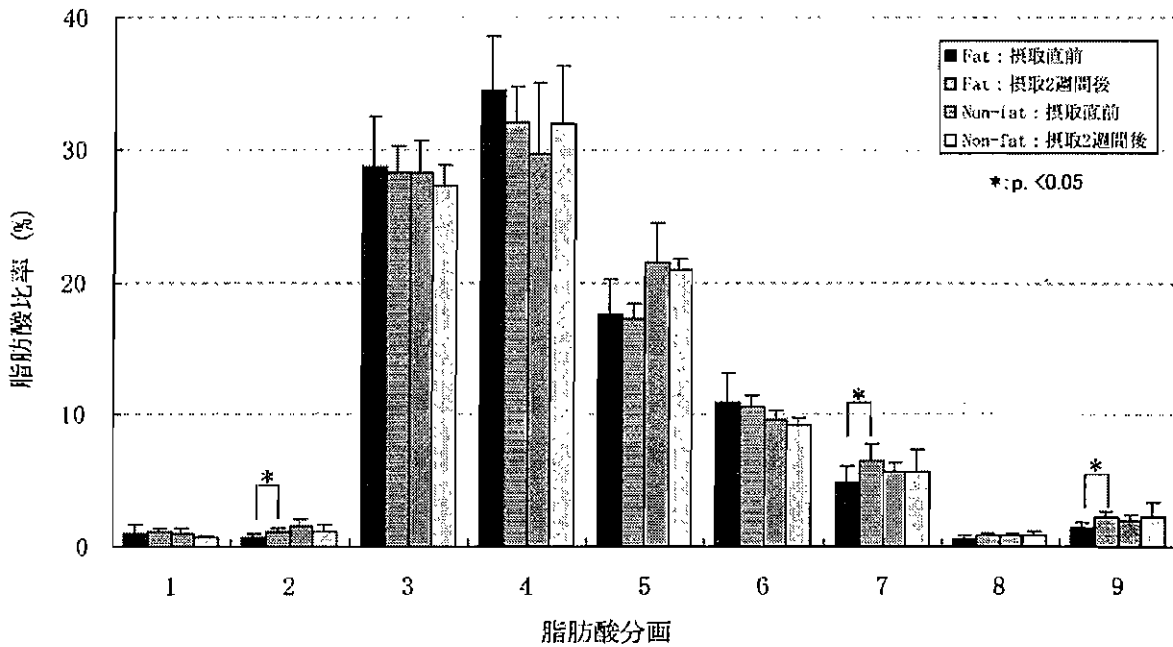


図10 牛乳摂取直前と摂取2週間後の血清脂質の脂肪酸組成比率

分画1：ミリスチン酸、2：パルミトオレイン酸、3：パルミチン酸、4：リノール酸、5：オレイン酸、6：ステアリン酸、7：アラキドン酸、8：EPA、9：DHA

考 察

牛乳の摂取においてネガティブな印象を与える要因として、肥満や血中の脂肪が増加するなどの脂肪摂取の影響が考えられる。以前の牛乳摂取実験においては、通常量の摂取では血漿脂質濃度の上昇はほとんど認められないと報告されている。しかしながら、牛乳摂取実験の多くはその摂取量と血漿脂質濃度との関係を論じたものが多く、牛乳の摂取が血漿中の脂質により構成されるリポ蛋白に及ぼす影響についての詳細は明らかでない。

今回、我々は市販されている普通脂肪牛乳と無脂肪牛乳による摂取実験を行なった。脂質とアポ蛋白濃度の変動について検討したところ、普通脂肪牛乳摂取群ではいずれの脂質濃度も有意な変動はなく、むしろ個人の生理的変動幅が大きかった。これは、個人の脂質代謝機能状態によるもので、なんらかの脂質を摂取することにより一時的に変動することが考えられた。一方、無脂肪牛乳摂取群では、TC、LDL-C、HDL-Cの変動はほとんど認められなかったが、TGとPLの減少傾向が認められた。これは、牛乳中に脂肪を含まないため、TGの摂取量の減少によるためと考えられた。

TG濃度に対するリポ蛋白組成の変動を電気泳動法により検討した結果、普通脂肪牛乳摂取群では上述のTG濃度の変動を反映して、有意な変動は認められなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では、HDL-TGとVLDL-TG濃度で有意な減少が認められ、LDL-TGも減少傾向にあった。VLDL-TG濃度の低下はVLDLの代謝回転が速くなってIDLにまで異化されており、またHDL-TGやLDL-TGの減少はVLDLとの脂質(TG)交換の低下によるものと考えられる。無脂肪牛乳の摂取は血漿中TG代謝に影響する可能性がある。

高TG血症において、LDL粒子の小粒子化、すなわちsmall dense LDLの生成は酸化LDLの生成と関連があり、動脈硬化危険因子の中でもっとも強い因子と考えられている。酸化LDLは血中レベルが微量であり、またLDLの酸化は多様な修飾を起こしているため血中での測定での問題点が提起されている。今回、Native-PAGEによるLDL粒子サイズの計測とLDLの脂質組成比率について検討したところ、通常脂肪牛乳摂取群でのLDL粒子サイズはほとんど変動がなかったが、LDL粒子の脂質組成比率としてはPLとTGの含有率が減少傾向にあり、LDLはコレステロールリッチな粒子となっていた。一方、無脂肪牛乳摂取群では粒子サイズは大きくなる傾向にあり、LDLの脂質組成は通常脂肪牛乳群と同様にPLとTGの含有率が減少傾向にあり、LDLはコレステロールリッチな粒子となっていた。通常脂肪牛乳摂取群は上述したように、個々の変動幅が大きいため統計的有意差としては認められないと思われる。

最近では、動脈硬化症などにおいて血液の血管内の流れ（血液レオロジー）、一般的にいわれるところの「血液サラサラ」度、の悪さが指摘されている。これは、血液の血漿成分の変化と血球の流動性の変化を視覚的に捕らえられることで注目されている。我々の研究室では、この血液レオロジーの生化学的証明を現在行なっているが、今回の摂取実験において血液レオロジーの変化を測定機器チャンパーの中の血球が通過するゲートの血液通過時間として測定した。通常脂肪牛乳摂取群では、ばらつきはあったものの全体としては摂取後もほとんど変化はなかった。一方、無脂肪牛乳摂取群では血液通過時間が短縮していた。これは、血球の膜弾力性が向上し狭いゲートを変型しながらスムーズに流れていったことを示している。すなわち、リポ蛋白脂質組成で認められたPLやTGの減少と同様に血球膜成分にもなんらかの変化があったことを示唆している。血球表層膜はリン脂質二重層膜となっており、そのリン脂質組成の変化が膜の物理化学的性質に影響を与えることから、血球膜脂質組成の分析が必要と思われる。

遊離脂肪酸の中には、動脈硬化症と関連が強い血栓症を予防するもの（ α -リノレン酸）と原因になるもの（リノール酸、 γ -リノレン酸、アラキドン酸）が存在する。血漿中では、一部の脂肪酸はアルブミンと結合しており、残りはコレステロールエステル（CE）、TG、PLにエステル結合して保持されている。今回、ガスクロマトグラフィー・質量分析（GC-MS）により、血漿中の脂肪酸組成を検討した。Pool血漿を用いたリポ蛋白分画の組成において、TGリッチリポ蛋白のVLDLでは、パルミチン酸とオレイン酸が同程度に多く含まれており、その次にリノール酸が多く含まれていた。LDLではリノール酸の含量が多く、次いでオレイン酸とパルミチン酸が多く含まれていた。HDLではパルミチン酸、次いでリノール酸、オレイン酸が多く含まれていた。LDLとHDLには、VLDLにくらべてアラキドン酸（C20:4、AA）が多く含まれており（数%）また、HDLにはドコサヘキサエン酸（C22:6、DHA）が検出された。通常脂肪牛乳摂取群ではアラキドン酸とDHAの含量比率が有意に上昇しており、これらの成分が牛乳脂質から供給されるのか、体内の脂質代謝の変化によるものか不明であるが、動脈硬化症抑制効果との関連が注目された。奥山らはコレステロール量よりもリノール酸/リノレン酸比が動脈硬化や心疾患の危険因子として高いことを報告している。近藤らは、リノール酸比率と動脈硬化の危険因子としてのHDL（高比重リポ蛋白）の低下（HDLの上昇は抗動脈硬化因子）との関連に

注目し、さらにコレステロール含量の多いLDL（低比重リポ蛋白）そのものでなく酸化されたLDLが動脈硬化の危険因子として高いことを報告している。今後、個々の検体についてのリポ蛋白分画中の脂肪酸または脂質分画中の脂肪酸の分析を行なっていきたい。

牛乳摂取による本研究により、血漿リポ蛋白中の脂質の量的および質的な変動を捕らえることにより、牛乳脂質が血漿中の脂質代謝に及ぼす影響を検討することができた。特に無脂肪牛乳摂取群は、脂質濃度や組成において有意な差が認められた。また、さらりと飲みやすく、排便量（回数）も増加したとの被験者からの感想もあり概ね良好であった。しかし今回は摂取期間が2週間と短く、被験者も10名と少数であったため、今後さらに被験者数を増やし、中・長期にわたる摂取による検討する必要がある。

結 語

健常人において通常脂肪牛乳摂取（1日、500mlを2週間摂取）では、血漿脂質濃度および組成に大きな差は認められなかったが、血漿脂質中の不飽和脂肪酸比率が増加し、組成の変化が認められた。また、無脂肪牛乳摂取群では、血漿中のTG（中性脂肪）の減少やLDL粒子サイズの改善などが認められ、TG代謝の改善およびLDLの小粒子化抑制に影響することが考えられた。

謝 辞

本研究にあたり、御指導を頂きました信州大学名誉教授 武富 保先生に深く感謝致します。

文 献

- (1) 奥山治美；生活習慣病予防の脂質栄養指針～コレステロールに関する新知見を踏まえて～（平成11年）食の科学 第7巻、p. 20-25
- (2) 近藤和雄、岩本珠美；脂質栄養学の最前線～脂質栄養と動脈硬化～（平成9年）日本油脂学会誌 第46巻、p.133～141
- (3) 板部洋之、高野達哉；LDLの変性とその意義（平成10年）Progress in medicine 第18巻、p. 1909-1913
- (4) 平野 勉、芳野 原、鹿住 敏；LDL粒子サイズと臨床的意義（平成10年）Progress in medicine 第18巻、p. 1915-1920
- (5) Hiroya Hidaka et.al；Identification and characterization of triglyceride rich lipoproteins with very light density ($d. < 1.000 \text{ g/ml}$) by ultracentrifugation and agarose gel electrophoresis using triglyceride- and cholesterol-staining、Annals of Clinical and Laboratory Science (in press)

- (6) 日高宏哉ら；血清HDL亜分画の性質とコレステロールの分布の変動について（昭和59年）脂質生化学研究会 第26巻、p.420-423
- (7) 日高宏哉ら；ヒト血清リポ蛋白中の各種アポ蛋白の分布とリポ蛋白亜分画の検討（昭和60年）脂質生化学研究会 第27巻、p.119-122
- (8) 赤沼幸子、日高宏哉ら；デキストラン硫酸-Mg²⁺-ポリエチレングリコーを用いたHDL-コレステロール分画の検討（平成6年）医学検査 第43巻、p.1616-1620
- (9) 日高宏哉ら；HDL-コレステロール直接法および沈殿測定法とゲル濾過クロマトグラフィ-によるSlow α リポ蛋白症例の反応性の検討（平成9年）臨床化学 第26巻、p. 143-149
- (10) 日高宏哉ら；リポ蛋白分画中の脂質組成の分析（平成14年）検査と技術 第29巻、p.1053-1059