

## 脂肪細胞の脂質代謝に及ぼす魚油の影響

植 木 章 三

愛媛大学医学部医化学第二

### *Effects of fish oil on lipid metabolism of fat cells*

*Shouzoh Ueki*

*Second Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University*

#### Summary

Dietary fish oils, enriched with n-3 fatty acids [e.g., docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA)] are known to inhibit lipogenesis and have a marked hypotriglyceridemic effect on humans and experimental animals. In order to elucidate the effects of dietary fish oil with high DHA and EPA contents on lipid metabolism of fat cells, thirty-six 5-week-old Wistar-King male rats were fed 25% (w/w) fat and divided into three experimental diet groups (n = 6): fish oil diet group, high n-3 polyunsaturated fatty acid diet feeding rats; corn oil diet group, high n-6 polyunsaturated fatty acid diet feeding rats; beef tallow diet group, high n-9 unsaturated fatty acid diet feeding rats. After feeding for 4 weeks, the author examined plasma triglyceride, NEFA, phospholipid, total cholesterol, HDL-cholesterol concentration, fat pad mass, fat cell size, norepinephrine-induced lipolysis in fat cells (fat cells derived from the epididymal adipose tissue) and norepinephrine-induced lipolysis in a cell-free system. In addition, diglyceride acyltransferase (DA) activity of fat cells and liver, and 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (3-HAD) activity of soleus muscles and liver were measured. It was found that plasma lipid content and epididymal fat pad mass of fish oil diet group were significantly ( $p < 0.05$ ) reduced compared with those of the other two groups. Norepinephrine-induced lipolysis of fat cells was significantly ( $p < 0.05$ ) lower in fish oil fed rats than in corn oil and/or beef tallow fed rats. No difference was found in the hormone-sensitive lipase (HSL) content of fat cells from fish oil, corn oil and beef tallow fed rats. Then, experiments were designed to elucidate the role of endogenous lipid droplets of fat cells in the norepinephrine-induced lipolysis. Norepinephrine-induced lipolysis in a cell-free system consisting of epididymal adipose tissue HSL and lipid droplets from fish oil fed rats was significantly ( $p < 0.05$ ) lower than that in the system consisting of the same HSL and lipid droplets from corn oil and/or beef tallow fed rats. These results suggest that lipid droplets play an important role as a limiting factor on norepinephrine-induced lipolysis. DA activity of fat cells and liver from fish oil fed rats was also significantly ( $p < 0.05$ ) reduced compared with that of fat cells and liver from corn oil and/or beef tallow fed rats. The ratio of DA activity to lipolysis in fat cells from fish oil

---

1998年6月3日受理

愛媛大学医学部医化学第二

fed rats was significantly ( $p < 0.05$ ) reduced compared with that in fat cells from corn oil and/or beef tallow fed rats. 3-HAD activity of liver from fish oil fed rats was significantly ( $p < 0.05$ ) increased compared with that of liver from corn oil fed rats, but not from that of beef tallow fed rats. The ratio of DA activity to 3-HAD activity in liver from fish oil fed rats was significantly ( $p < 0.05$ ) reduced compared with that in liver from corn oil fed rats, but not from that of beef tallow fed rats. Thus in fish oil fed rats, the reduction in the ratio of lipogenesis to  $\beta$ -oxidation in liver may cause the reduction in plasma triglyceride and cholesterol concentration, and the reduction in the ratio of lipogenesis to lipolysis in fat cells may explain in part the selective reduction in adipose tissue trophic growth accompanying fish oil consumption.

## Key Words

fish oil, lipolysis, fat cell

## 緒 言

脂質は、由来する食品により構成する脂肪酸組成が異なるが、一部の脂肪酸の中には脂質代謝に様々な影響を与えるものがあることが知られている。特に、魚油に多く含まれるドコサヘキサエン酸 (DHA) やエイコサペンタエン酸 (EPA) など n-3 系多価不飽和脂肪酸には、抗動脈硬化作用<sup>9</sup> や血中脂質低下作用<sup>13), 19), 23), 26), 27)</sup>、体脂肪蓄積抑制効果<sup>19</sup> などのあることが報告され、肥満防止や成人病予防の観点から、魚油が有用な脂質源として認識されるようになってきた。

魚油の持つ抗脂血症、抗肥満作用の機序に関しては、いくつかの知見が報告されている。血中脂質低下に関しては、肝臓における脂肪合成が抑制されること<sup>8), 24), 26), 27)</sup> や酸化系酵素活性が高くなること<sup>21), 26)</sup> が、血液中への超低密度リポタンパク質 (VLDL-TG) の放出を抑制していると考えられている。また、体蓄積脂肪量の減少に関しては、脂肪細胞における脂肪分解が促進されることや脂肪細胞における脂肪合成が抑制されることによつて<sup>19)</sup>、脂肪細胞の容積が縮小し脂肪組織重量が減少すると考察されている。しかし、植木らは<sup>28)</sup>、魚油の摂取 (10% 含飼料) により脂肪組織重量の減少と血中脂質の低下がみられるものの、脂肪分解は有意に抑制されることを報告している。また、魚油は脂肪分解や合成にあまり影響を与えないとする報告もみられる<sup>9)</sup>。これらのことは、魚油による脂肪組織重量の減少を単に脂肪細胞での脂肪分解の促進では説明できないことを示している。従来の報告は、それぞれ異なる実験条件において、脂肪細胞や肝臓ならびに血中脂質の動態を部分的に分析した報告が多く、統一した実験条件のもとで、相互の関連性について

検討した報告はあまりみられない。

そこで本研究では、魚油の抗脂血症ならびに抗肥満作用の機序を、脂肪細胞を中心に、血漿や肝臓、筋肉などの脂質代謝の分析から組織相互への作用を総合的に考察することにした。すなわち、DHA や EPA を多く含む魚油、それにコーン油と牛脂のそれぞれを脂質として含む飼料を用いてラットを飼育し、脂肪細胞の脂肪分解ならびに脂肪合成を分析するとともに、肝臓や筋肉での  $\beta$ -酸化や脂肪合成についても分析を行い、脂肪細胞や他の組織における脂質代謝の相互作用について検討することにした。

## 対象と方法

### 1) 動物と飼料

動物は、5 週齢の Wistar-King 系雄性ラットを用いた (大阪クレア)。1 週間の予備飼育後 4 週間飼育し、期間中は飼料摂取量を毎日、体重増加量を 1 週間毎に測定した。飼育環境は、室温を  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  に、照明を 12 時間の周期で明暗を切り替える (7:00~19:00 点灯) ように設定し、金網ケージ (160 mm  $\times$  210 mm  $\times$  160 mm) 内で個別に飼育した。飼料は、カゼイン 25%、コーンスターチ 29.4%、グラニュー糖 14.6% に、脂質 25%、ミネラル混合 (オリエンタル酵母) 4%、ビタミン混合 (オリエンタル酵母) 0.95%、セルロースパウダー 10%、チョコラ A (エーザイ) 0.05% を配合したものに、脱イオン水を加え 1.6 倍にし餅状にこねたものを用いた (Table 1)。飼料のエネルギー比は脂質 45%、炭水化物 35%、タンパク質 20% であった。脂質は、新鮮クロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* 眼窩脂肪組織より減圧冷却遠心分離して得られた魚油 (DHA, 26.1%, EPA,

Table 1 Composition of experimental diets (g/kg)

Ingredient	Experimental diets		
	Fish oil	Corn oil	Beef tallow
Casein	250	250	250
Cornstarch	294	294	294
Crystalline sucrose	146	146	146
Fish oil*1	250	—	—
Corn oil	—	250	—
Beef tallow	—	—	250
Mineral mixture*2	40	40	40
Vitamine mixture*3	9.5	9.5	9.5
Cellulose powder	10	10	10
Chocola A*4	0.5	0.5	0.5

\*1 Orbital fats and oils of tuna.

\*2 Oriental Yeast Industry Co., Ltd.

Mineral mixture (100 g) contained CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.43 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 34.31 g; NaCl, 25.06 g; Fe-citrate, 0.623 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 9.98 g; ZnCl<sub>2</sub>, 0.02 g; MnSO<sub>4</sub>·4.5H<sub>2</sub>O, 0.121 g; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.156 g; KI, 0.0005 g; CaCO<sub>3</sub>, 29.29 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>7</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.0025 g.

\*3 Oriental Yeast Industry Co., Ltd.

Vitamine mixture (100 g) contained vitamine A-acetate, 46,600 I.U.; vitamin D<sub>3</sub>, 23,300 I.U.; vitamin E-acetate, 1,200 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 6 mg; vitamin B<sub>1</sub>-HCl, 59 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 59 mg; vitamin B<sub>6</sub>-HCl, 29 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.2 mg; vitamin C, 588 mg; D-biotin, 1 mg; folic acid, 2 mg; Ca-pantothenate, 235 mg; nicotinic acid, 294 mg; inositol, 1,176 mg; lactose, 96 mg.

\*4 Eisai Co., Ltd., One ml contained 30,000 I.U. of vitamin A and 0.075 mg of vitamin D.

7.7%), コーン油, および牛脂の3種類を用いた (Table 2)。飼料は脂質の酸化を考慮して, 3日おきに作り替え, 密閉して4°Cで保存した。3種類の飼料を摂取したラットをそれぞれ魚油食群, コーン油食群, 牛脂食群とし, 各群6匹づつ用いた。飼料および水は自由摂取とした。なお本動物実験は, 愛媛大学医学部で制定されている動物実験指針に基づいて動物実験管理委員会の認可のもとに実施された。

## 2) 試料と材料

本実験で測定したトリグリセライド (TG), 遊離脂肪酸 (NEFA), リン脂質 (PL), 総コレステロール (T-Cho), HDLコレステロール (HDL-Cho) は, いずれも和光純薬工業株式会社のトリグリセライド E-テストワコー, NEFA C-テストワコー, リン脂質 B-テストワコー, コレステロール C-テストワコー, HDL-コレステロール-テストワコーをそれぞれ使用し測定した。脂肪滴のリン脂質の定量に使用した Sep-Pak Silica カートリッジは,

Table 2 Major fatty acid compositions of dietary oil and fat that were contained in the experimental diet.

Fatty acid	(% )		
	Fish oil	Corn oil	Beef tallow
Palmitic acid (16:0)	17.9	11.4	23.1
Stearic acid (18:0)	3.8	2.6	15.2
Oleic acid (18:1 n-9)	17.5	38.9	45.5
Linoleic acid (18:2 n-6)	3.7	44.6	3.0
Arachidonic acid (20:4 n-6)	1.9	—	—
EPA (20:5 n-3)	7.7	—	—
DHA (22:6 n-3)	26.1	—	—
Others	21.4	2.5	13.2

日本ミリポアリミテッド社より購入した。脂肪細胞の調製に使用した牛胎児血清アルブミン (BSA) は和光純薬工業株式会社より購入し, この中に含まれている遊離脂肪酸を Chen の方法<sup>9)</sup> で除去したものをを用いた。ノルエピネフリンは三共株式会社より, Dipalmitin (C16:0), Palmitoyl CoA と Acetoacetyl CoA は Sigma 社より, [1-<sup>14</sup>C]palmitoyl CoA は NEN 社より, また, β-NADH はオリエンタル酵母よりそれぞれ購入した。

## 3) 試料の採取

ラットは, 4週間の飼育期間終了後に10週齢になった時点で, 3時間絶食させた後, ネブタール麻酔下, 開腹, 開胸し, 心臓より採血した。採血した血液は, 直ちに4°Cで1,500×g, 15分間遠心分離を行い血漿成分を分離した。また, 両脚のヒラメ筋, 肝臓ならびに副睾丸脂肪組織を摘出しその重量を測定した。摘出した肝臓および分離した血漿成分は, 分析まで冷凍保存 (-40°C) した。なお, 肝臓の一部 (約1mm<sup>3</sup>) は, 電子顕微鏡観察用切片試料に用い, 100mg は肝組織酵素液の調製に供した。またヒラメ筋50mg は筋組織酵素液の調製に供した。

## 4) 肝臓ならびに血漿中の脂質量の測定

摘出した肝臓は, クロロホルム:メタノール (1:2) 混合液に浸し, POLYTRON (KINEMATICA) を用いてホモジナイズした。4°Cで1,500×g, 15分間遠心分離した後, 上清のTG量ならびにT-Cho量を測定した。また冷凍保存していた血漿を室温で解凍し, TG, NEFA, PL, T-Cho, HDL-Choそれぞれの濃度を測定した。

## 5) 脂肪細胞ならびに内因性脂肪滴 (LD) の調製

脂肪細胞の調製は, Rodbell の方法<sup>20)</sup> に準じて, 摘出した副睾丸脂肪細胞を細かくスライスし, コラゲナーゼ溶液中において37°Cで40分間加温した後, Hanks buff-

er で洗浄した。また、得られた脂肪細胞 2 ml を 5 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) 8 ml と混和し、ゆっくり転倒させ、室温で 200×g, 3 分間遠心分離した。この脂肪層をさらに 0.025% Triton X-100 を含む 5 mM Tris-HCl 緩衝液と混和し、上記の操作を行った。脂肪層を緩衝液 A (25 mM TES, 135 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.4) で 1 回洗浄し、遠心分離後の脂肪層を 37°C, 10 分間加温した。これを緩衝液 A で 1 回洗浄し、遠心分離後得られた脂肪層を LD 標品とした。

#### 6) 脂肪細胞における脂肪分解活性の測定

得られた脂肪細胞 50 μl に 2.5% の BSA を含む Hanks buffer とノルエピネフリン 0.1 μg/ml を添加し、37°C で 1 時間加温した後、遊離した脂肪酸を測定した。

#### 7) ホルモン感性リパーゼ (HSL) 酵素液の調整

0.7 g の脂肪組織に 1 ml の緩衝液 A を加え、Potter-Elvehjem ホモジナイザーを用いてホモジナイズした。このホモジネートを 10°C で 2,500×g, 15 分間遠心分離し、その上清をヘパリン-セファロースカラム (5×20 mm) に通し、その非吸着画分を HSL 酵素液として用いた<sup>10)</sup>。

#### 8) 無細胞系における脂肪分解活性の測定<sup>11)</sup>

得られた LD に、前述の HSL 酵素液を加え、BSA 存在下でノルエピネフリン 0.1 μg/ml を添加し、37°C で 1 時間加温した後、遊離した脂肪酸を測定した。なお、各群の LD による活性の差異を検討するために、各群ラットの副辜丸脂肪組織からそれぞれ調製して得られた LD に、普通食 (オリエンタル酵母) で飼育した 6 週齢の Wistar-King 系雄性ラット (大阪クレア) 数匹の副辜丸脂肪組織から調整した HSL 酵素液を加えた場合 (LD 比較測定) と、各群の HSL による活性の差異を検討するために、各群ラットの副辜丸脂肪組織からそれぞれ調製した HSL 酵素液を、普通食 (オリエンタル酵母) で飼育した 6 週齢の Wistar-King 系雄性ラット (大阪クレア) 数匹の副辜丸脂肪組織から調製して得られた LD に加えた場合 (HSL 比較測定) の 2 種類の測定を実施した。

#### 9) HSL 活性の測定

アラビアゴム存在下 [<sup>3</sup>H] トリオlein エマルジョン 10 μl を基質とし、前述の HSL 酵素液 50 μl に BSA を含む緩衝液 (反応液中最終濃度: 1.43% BSA, 80 mM KCl, 20 mM NaCl, 45 mM BES, pH 6.8) 40 μl を添加し、37°C で 1 時間反応させ、遊離した [<sup>3</sup>H]-olein 酸を測定した<sup>9)</sup>。

#### 10) LD 中のリン脂質の定量と脂肪酸組成の測定

脂肪細胞より調製した LD からクロロホルム:メタノール (1:2) 混合液で抽出したリン脂質 (PL) を

含むトリグリセライド (TG) を Sep-Pak Silica に通した。TG は Silica に吸着せず、PL は吸着した。ホスファチジルエタノールアミン (PE) は、クロロホルム:メタノール (1:2) 混合液で溶出され、ホスファチジルコリン (PC) は、クロロホルム:メタノール:H<sub>2</sub>O (1:2:0.8) 混合液で溶出された。N<sub>2</sub>-gas で有機溶媒を除いた後、Bartlett の方法<sup>9)</sup> で PE ならびに PC の定量を行った。

また、Folch らの方法<sup>10)</sup> に準じて LD 中の脂質の抽出を行い、さらに、Nelson らの方法<sup>11)</sup> に準じてメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフにより脂肪酸組成を測定した (島津製作所 GC-14B, カラム: URBON HR-SS-10, 25 m × 0.25 mm, SHINWA CHEMICAL INDUSTRIES, Ltd., ヘリウム流量: 1.5 ml/min, 60:1, カラム層: 250°C, 試料気化室および検出器: FID, 200°C)

#### 11) 肝組織の画像解析用切片の作成と観察

摘出した肝臓の一部 (約 1 mm<sup>3</sup>) を、3% グルタルアルデヒドを含む 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に 4°C で 4 時間浸漬後、0.1 M のリン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄し、さらに 2% オスミウム酸を含む 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中にて 2 時間浸漬した。再び 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄した後、プロピレンオキサライドで脱水し、エポン 812 で包埋した。それをセクションニングし、酢酸ウランクエン酸鉛でダブルステイン (2 重染色) した。作成した切片の観察には、透過型電子顕微鏡 (日立 H-800) を使用した。

#### 12) Cellularity

Cellularity は、Hirsch の方法に準じて行った<sup>12)</sup>。すなわち、副辜丸脂肪組織を 2% オスミウム酸を含む 50 mM のコリジン水溶液 (pH 7.4) に加え、37°C で 72 時間以上インキュベーションした後に、蒸留水で洗浄し、透過型電子顕微鏡 (日立 H-500) にて細胞直径を測定した。

#### 13) 肝組織酵素液ならびに筋組織酵素液の調製

肝組織 100 mg ならびにヒラメ筋 50 mg を均等化用緩衝液 (175 mM KCl, 10 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7.4) 2 ml に加え、POLYTRON (KINEMATICA) を用いてホモジナイズした後、4°C で 1,000×g, 10 分間遠心分離を行い、その上清をそれぞれ肝組織酵素液および筋組織酵素液として用いた。

#### 14) Diglyceride acyltransferase (D.A) 活性の測定<sup>9)</sup>

前述の HSL 酵素液ならびに肝組織酵素液の D.A 活性を測定した。反応液 (16 μmole Tris buffer (pH 7.4), 1 μmole Cystein HCl, 0.6 μmole Dipalmitin (C 16:0), 0.12 mg Tween 20, 0.1 mg BSA, 1 μmole

MgCl<sub>2</sub>, 6 nmol [<sup>1-14</sup>C]palmitoyl-CoA (0.05 μCi/tube) 140 μl に酵素液60 μl を加え, 37°C で10分間加温した後, Dole の抽出液 (ヘプタン: イソプロピルアルコール: 1 N 硫酸=10:40:1) 1 ml を加え, さらにヘプタン 0.6 ml と蒸留水0.4 ml を加える。5分間振盪後, ヘプタン層より0.6 ml を分取し, それに50%エタノールに溶かした0.05 N NaOH 0.6 ml を加える。再び5分間振盪した後, ヘプタン層よりバイアル瓶に200 μl を分取し, それに8 ml の ACS II を加え, 液体シンチレーションカウンター (アロカ) にてカウントし, 合成されたトリグリセライド量を算出した。

#### 15) 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (3-HAD) 活性の測定<sup>9)</sup>

前述の肝組織酵素液および筋組織酵素液は, 凍結 (-80°C) と解凍 (室温) を3回繰り返した後, 4°C で1,000×g, 10分間遠心分離し, 上清を均等化用緩衝液にて肝組織酵素液は100倍, 筋組織酵素液は40倍希釈した。反応液 (100 μmole Triethanolamine-HCl (pH 7.0), 5 μmole EDTA, 0.25 μmole NADH) 0.8 ml に, 1 mM Acetoacetyl-CoA を0.1 ml と希釈均等液0.1 ml を加え, 分光光度計 (340 nm, 30°C) にて3分間の吸光度変化を測定し酵素活性を算出した。

#### 16) 統計学的処理

実験結果は, 各群 (n = 6) の平均±標準誤差で表示した。また各群間の平均値の差の検定には, Student-t test を行い, 危険率5%をもって統計学的有意とした。

## 結 果

飼育期間中の体重増加量ならびに飼料摂取量を Fig. 1

に示した。飼育期間中のラットの体重は, 購入直後の5週齢では100~110gであったものが, その後各群ともに順調に体重が増加し (1週間で約50g増加), 最終的には300~350gになった。しかし, 7週齢の時点より魚油食群の体重がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低い傾向を示し, 飼育終了時点で約50g少なかった。また, 飼育期間中の飼料摂取量を1週間の総摂取量の変化で見ると, 各群ともに増加傾向を示したが, 7週齢の時点では各群間に有意な差はみられなかったものの, 6, 8, 9週齢の時点では, 魚油食群が他の2群に比べ少ない傾向を示した。このように飼育期間が進むにつれて, 魚油を摂取した群は, 体重増加量が減少するとともに飼料摂取量も減少する傾向が認められた。

副睾丸脂肪組織重量, 肝臓重量, ヒラメ筋重量をそれぞれ示したものが Fig. 2 である。副睾丸脂肪組織重量は, 魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。また, 脂肪細胞の直径も魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に小さかった。肝臓重量は, コーン油食群, 魚油食群, 牛脂食群の順に高い傾向を示したが, その差は少なく, 有意差がみられたのは, コーン油食群と牛脂食群との間のみであった。ヒラメ筋重量は, 魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。このように, 魚油の摂取によって, 体構成組織である脂肪組織や筋組織の重量の減少傾向がみられたが, 肝臓では, そのような傾向が認められなかった。

血漿中の各脂質成分含量を Fig. 3 に示した。TG は, 魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低く, コーン油食群も牛脂食群に比べ有意に低かった。その他, NEFA, PL, T-Cho は, 魚油食群が, コーン油

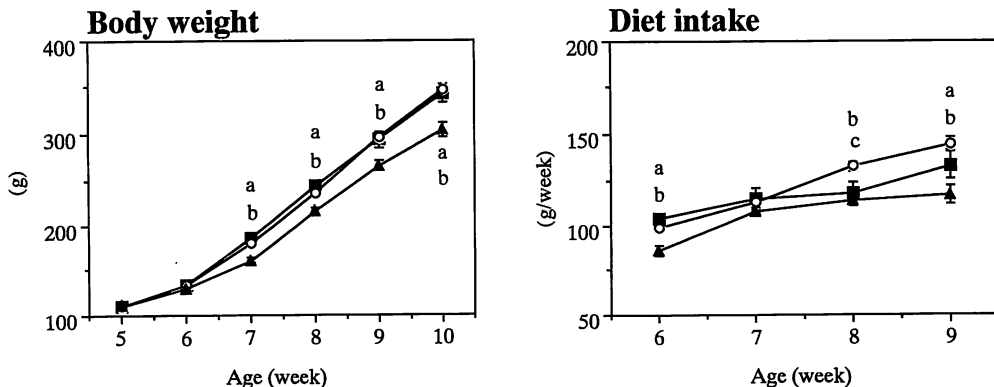
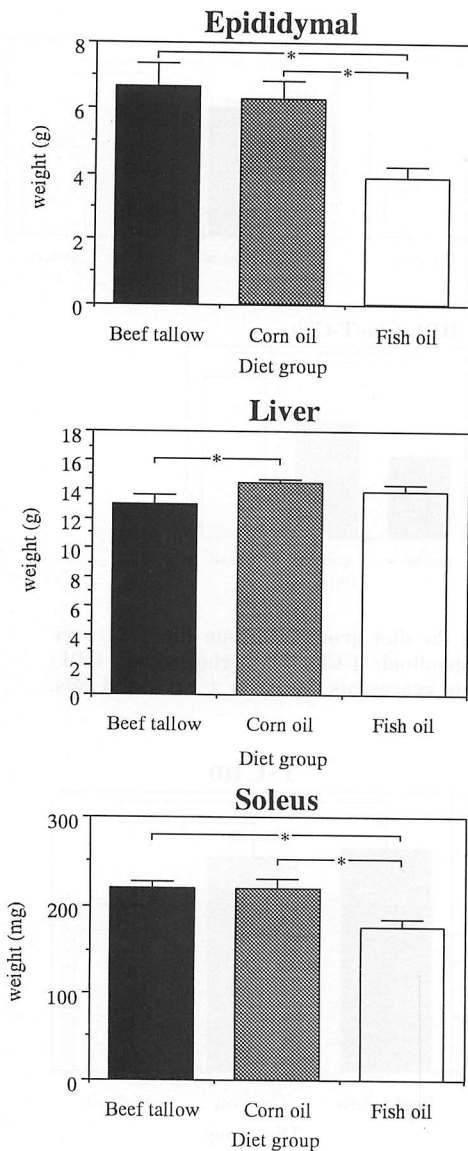


Fig. 1 Changes in rat body weight and the diet intakes of each diet group during the experimental period. Each point represents the mean ± SEM of 6 rats. (■), Beef tallow diet feeding rats; (○), Corn oil diet feeding rats; (▲), Fish oil diet feeding rats. The alphabetic symbols represents the significant difference ( $p < 0.05$ ) between each diet group; (a) Fish oil vs. Beef tallow; (b), Fish oil vs. Corn oil; (c), Corn oil vs. Beef tallow.



**Fig. 2 Comparison of the adipose tissue weight in epididymal, liver and soleus muscle among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).**

ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。また、T-Cho中のHDL-Choの割合は、魚油食群、コーン油食群、牛脂食群の順に高く、魚油食群はコーン油ならびに牛脂食群に比べ、またコーン油食群は牛脂食群に比べ有意に高かった。このように、魚油の摂取による著明な血漿脂質成分の低下が認められた。また、肝臓脂質含量を各群で

比較するために、脂質構成成分のうちTGとT-Choを測定した (Fig. 4)。いずれも魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。肝臓脂質含量の違いを視覚的に確認するために、各群の代表的な肝臓組織切片の電子顕微鏡写真を Fig. 5 に示した。牛脂食群とコーン油食群では、白色および灰色の直径が1~6  $\mu\text{m}$  の脂肪滴を多数確認することができたが、魚油食群では脂肪滴が数個みられる程度であった。このように魚油の摂取により肝臓脂質の著明な低下が認められた。

組織酵素活性についてみると、ヒラメ筋の3-HAD活性は、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ低い傾向を示したものの有意差は認められなかった。このことから魚油の摂取は、筋組織の $\beta$ -酸化系酵素活性の充進にはあまり寄与していないことが伺われた。次に、肝臓のD.A活性ならびに3-HAD活性を Fig. 6 に示した。肝臓のD.A活性は、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。また3-HAD活性は、コーン油食群が魚油、牛脂食群に比べ有意に低かった。そこで $\beta$ -酸化系の酵素である3-HAD活性当たりの脂肪合成系酵素であるD.A活性の比を算出した。コーン油食群が最も高く、次いで牛脂食群、魚油食群の順であった。コーン油食群と魚油ならびに牛脂食群の間には有意差がみられたが、牛脂食群と魚油食群との間には有意差はみられなかった。このことから、魚油摂取による肝TG量の低下は、脂肪合成系酵素活性に比較して、 $\beta$ -酸化系酵素活性の充進が顕著なことに起因していることが推測された。

脂肪細胞における脂肪分解ならびに脂肪合成に関する測定結果については、HSL活性の場合、各群で有意差は認められなかった。しかし、ノルエピネフリンによる脂肪分解活性においては (Fig. 7)、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。このことから、魚油の摂取によりノルエピネフリンによる脂肪分解活性が低下する原因としては、HSL活性以外の要因が考えられる。そこで、無細胞系における脂肪分解活性を測定し、LDとHSLが各群間の値の差にどのように関与しているかを検討した (Fig. 8)。LD比較測定におけるノルエピネフリンによる脂肪分解活性では、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かったが、HSL比較測定においては、各群間に有意差は認められなかった。このことから、前述の脂肪細胞におけるノルエピネフリンによる脂肪分解活性の違いは、HSLではなくLDによる影響であることが考えられた。

前述したように魚油食群の脂肪組織重量が、コーン油ならびに牛脂食群に比べ低いにもかかわらず、脂肪分解活性が低下することから、脂肪合成反応の著明な低下が

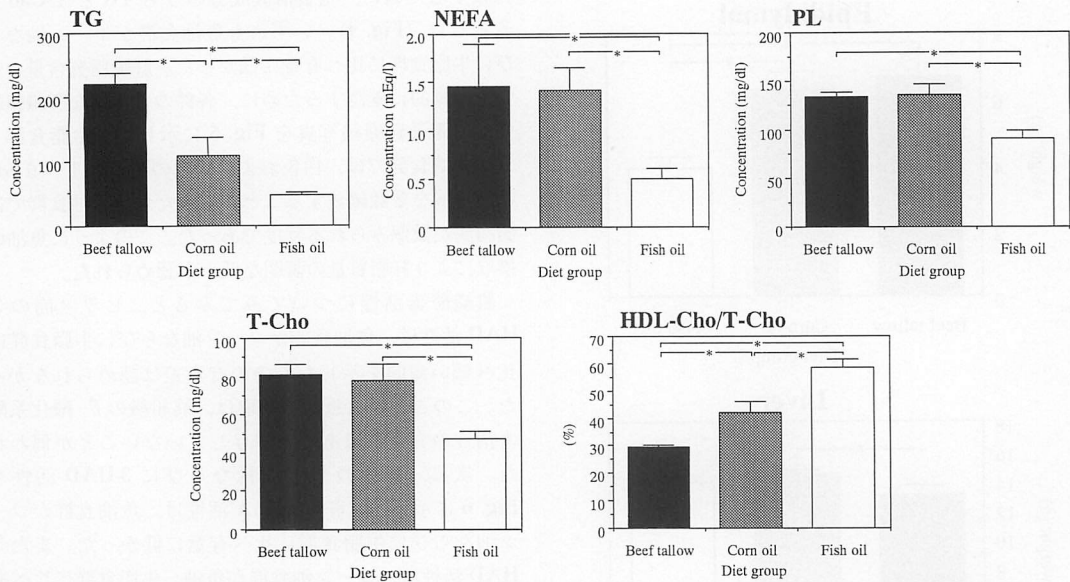


Fig. 3 Comparison of the plasma lipid contents among the diet groups. Plasma lipid; TG, triglyceride; NEFA, non estel fatty acid; PL, phospholipid; T-Cho, total cholesterol, HDL-Cho, high density lipoprotein cholesterol. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).

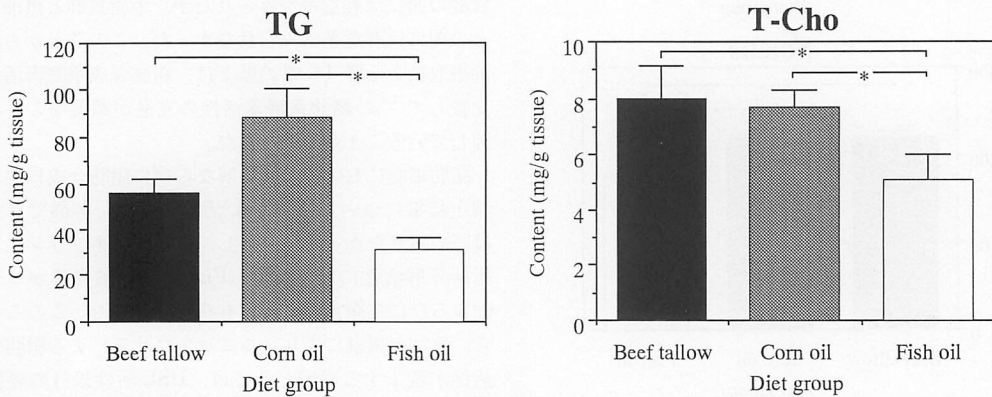


Fig. 4 Comparison of triglyceride (TG) and total-cholesterol (T-Cho) contents in rat liver among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).

考えられる。そこで、脂肪合成系酵素である D.A の活性を、脂肪細胞において測定した結果が Fig. 9 である。ノルエピネフリンによる脂肪分解活性と同じように、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。さらに、各群における脂肪分解に対する脂肪合成亢進の程度を分析するために、ノルエピネフリンによる脂肪分解活性当たりの D.A 活性の比を算出した (Fig. 10)。魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ低い傾向を

示し、牛脂食群と魚油食群との間に有意差が認められた。次に、無細胞系におけるノルエピネフリンによる脂肪分解活性当たりの D.A 活性の比を算出した (Fig. 11)。各群の脂肪細胞から調製した LD と同一の HSL (普通食で飼育したラットの副睾丸脂肪組織から調製した) からなる無細胞系における脂肪分解活性に対する比は、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ有意に低かった。このように、魚油の摂取により脂肪分解ならびに脂



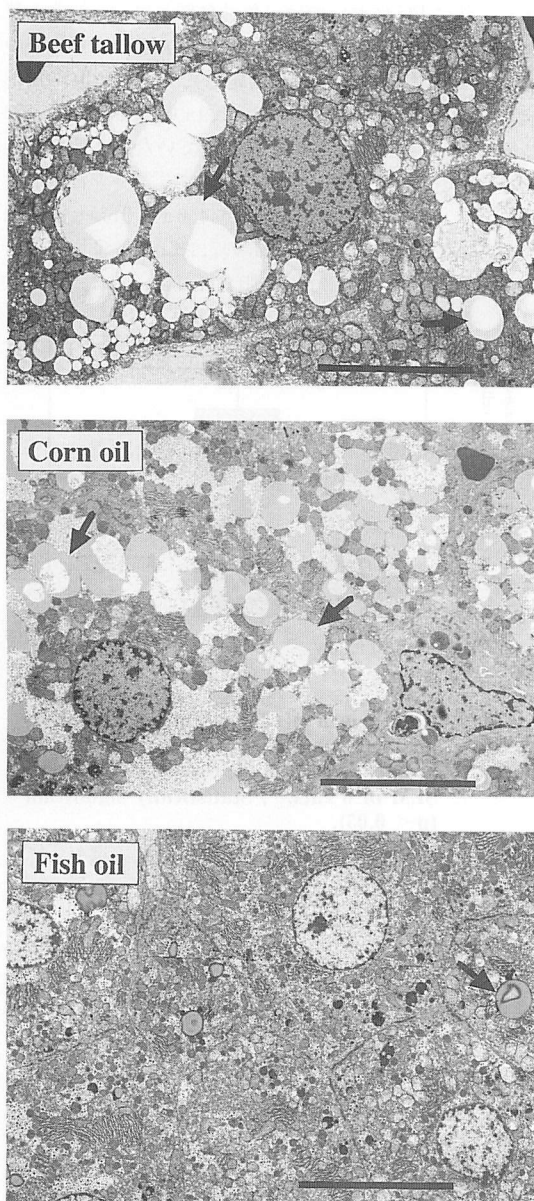


Fig. 5 Transmission electron micrographs of the sectioned liver in each diet feeding rat. Bar = 10  $\mu$ m. ( $\blacktriangledown$ ), Lipid droplets.

肪合成とともに低下するものの、脂肪合成の低下が脂肪分解の低下に比べ著しいために、脂肪組織重量の減少を招くことが推察された。

魚油の摂取によって脂肪分解能が低下することには、LD の変化が関与していることが考えられた。Ninomiya<sup>16)</sup> は、LD 表面のリン脂質が脂肪分解反応の阻

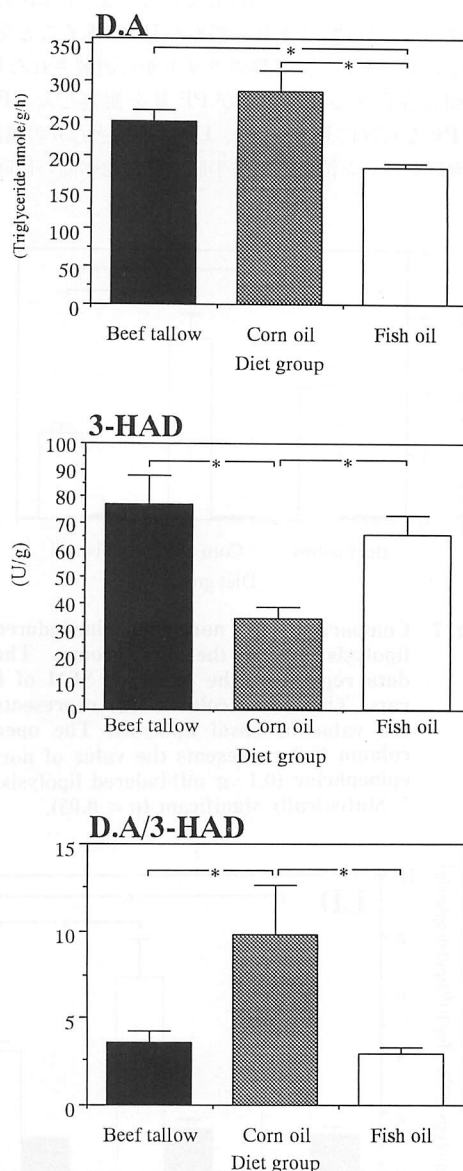
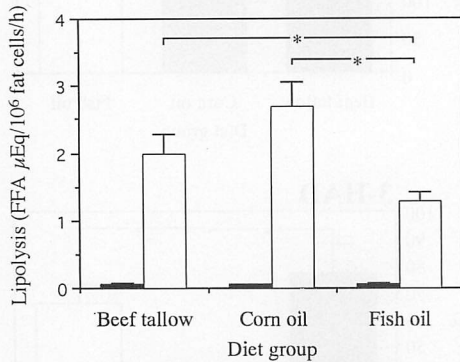


Fig. 6 Comparison of diglyceride acyltransferase activity (D.A), 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase activity (3-HAD), and the ratio of diglyceride acyltransferase activity to 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase activity of rat liver among the diet groups. The data represents Mean  $\pm$  SEM of 6 rats; D.A/3-HAD, diglyceride acyltransferase activity (Triglyceride nmole/g/h) per 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase activity (U/g); \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).

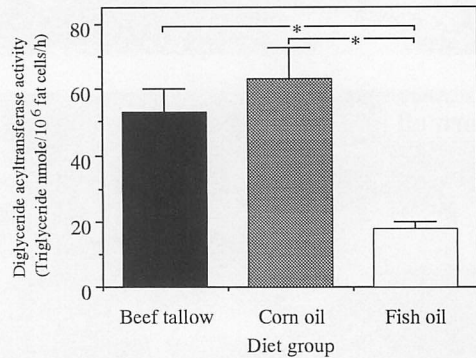


害に関与していることを報告している。また、LDのリン脂質の75%がPCであり、25%がPEであることを報告している。そこで、各群のラットから調製されたLDの表面に存在するPCおよびPE量を測定した (Fig. 12)。PEならびにPCともに、LD表面積当たりの値は、魚油食群がコーン油ならびに牛脂食群に比べ高い傾向を

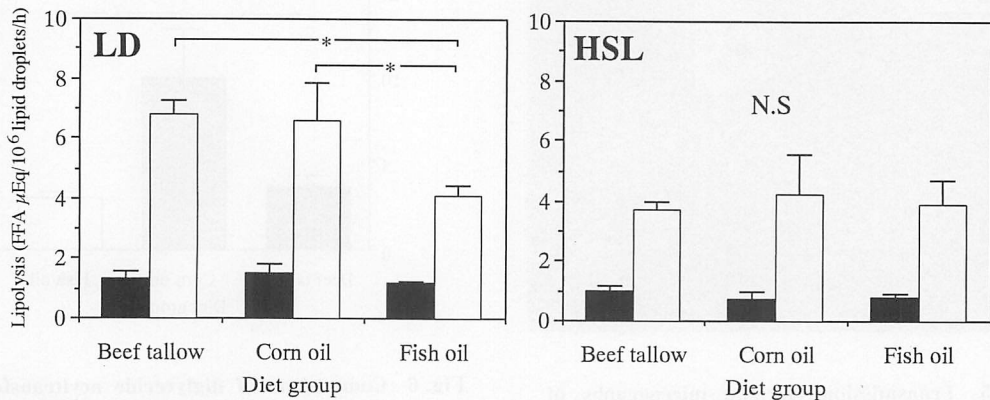


**Fig. 7** Comparison of norepinephrine-induced lipolysis among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. The closed column (■) represents the value of basal lipolysis; The open column (□) represents the value of norepinephrine (0.1  $\mu$ g/ml)-induced lipolysis; \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).

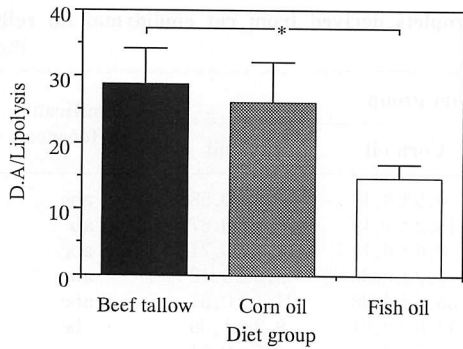
示し、特にPCにおいては、魚油食群とコーン油ならびに牛脂食群との間に有意差が認められた。またLD中の脂質における脂肪酸組成を測定した (Table 3)。魚油食群では、EPA (20:5 n-3) が1.9 $\pm$ 0.25%, DHA (22:6 n-3) が12.6 $\pm$ 0.97%を含有していたが、他の2群では検出されなかった。それに対して、コーン油食群では、リノール酸 (18:2 n-6) が44.6 $\pm$ 0.91%と、魚油食群の8.3 $\pm$ 1.06%, 牛脂食群の7.1 $\pm$ 0.5%に比べ顕著に多く含有していた。また牛脂食群では、特に、魚油食



**Fig. 9** Comparison of diglyceride acyltransferase activity of fat cells among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 8** Comparison of norepinephrine-induced lipolysis in a cell-free system consisting of lipid droplets and hormone-sensitive lipase among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. The closed column (■) represents the value of basal lipolysis; The open column (□) represents the value of norepinephrine (0.1  $\mu$ g/ml)-induced lipolysis; LD, endogenous lipid droplets were prepared from epididymal fat cells of each diet feeding rat and hormone-sensitive lipase was prepared from epididymal fat cells of lab-chow feeding male rats; HSL, hormone-sensitive lipase was prepared from epididymal fat cells of each diet feeding rat and endogenous lipid droplets were prepared from epididymal fat cells of lab-chow feeding male rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ). N.S., No significant difference.



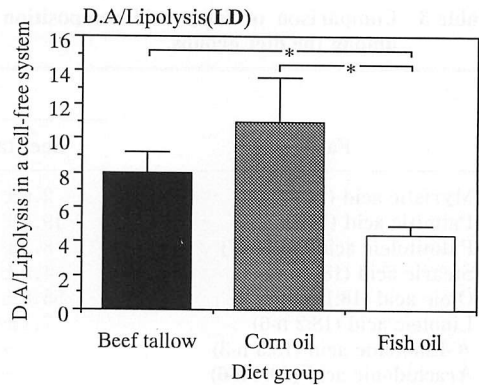
**Fig. 10** Comparison of the ratio of diglyceride acyltransferase activity to norepinephrine-induced lipolysis in fat cells among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ); D.A./Lipolysis, diglyceride acyltransferase activity (Triglyceride nmole/ $10^6$  fat cells/h) per norepinephrine-induced lipolysis (FFA  $\mu$ Eq/ $10^6$  fat cells/h).

群とコーン油食群に比べオレイン酸 (18:1 n-9) を多く含有していた。このように各群のLD中の脂肪酸組成は、摂取した脂質源の組成をほぼ反映していた。

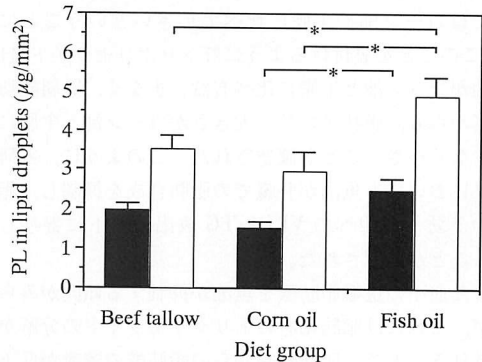
**考 察**

DHA や EPA など n-3 系多価不飽和脂肪酸を多く含む魚油を摂取することによって、血中のトリグリセライドやコレステロールなどの脂質成分が低下すること<sup>13),19),23),26),27)</sup>や脂肪組織重量が減少すること<sup>19)</sup>が知られている。本研究においても、魚油を摂取したラットの血漿TG, NEFA, T-Cho, PLは、コーン油と牛脂を摂取したラットよりも著しく低下した。またHDL-Choは、コーン油を摂取したラットでも牛脂を摂取したラットに比べ有意に割合が高くなったものの、魚油を摂取した場合にはさらに高値を示した。魚油を摂取することで、血中脂質が減少する背景には、肝臓における脂肪合成の低下ならびに脂肪酸の酸化反応の促進が、また脂肪組織重量が減少する背景には、脂肪細胞での脂肪分解の低下を上回る脂肪合成の減少が大きく関わっていると思われる。

魚油の摂取と肝臓での脂肪合成反応とのかかわりに関しては、肝臓でのグルコースの取り込み能が低下する<sup>20),27)</sup>、あるいは脂肪合成系酵素活性が低下する<sup>8),21)</sup>といった、魚油の肝臓での脂肪合成抑制作用を示唆する報告がいくつかなされている。本研究では、グルコースや脂肪酸から生成されたジグリセライドをトリグリセライドへ合成することにかかわるD.A.の活性について測定



**Fig. 11** Comparison of the ratio of diglyceride acyltransferase activity to norepinephrine-induced lipolysis in a cell-free system consisting of lipid droplets and hormone-sensitive lipase among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ). D.A., diglyceride acyltransferase activity of fat cells; Lipolysis (LD), norepinephrine (0.1  $\mu$ g/ml)-induced lipolysis in a cell-free system using lipid droplets were prepared from epididymal fat cells of each diet feeding rat; D.A./Lipolysis in a cell-free system, the ratio of diglyceride acyltransferase activity (Triglyceride nmole/ $10^6$  fat cells/h) to norepinephrine-induced lipolysis in a cell-free system (FFA  $\mu$ Eq/ $10^6$  lipid droplets/h).



**Fig. 12** Comparison of phospholipid contents per surface area ( $\text{mm}^2$ ) of lipid droplets among the diet groups. The data represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. The closed column (■) represents phosphatidylethanolamine (PE); The open column (□) represents phosphatidylcholine (PC), \*, Statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Table 3 Comparison of fatty acid composition in lipid droplets derived from rat epididymal fat cells among the diet groups.** (%)

Fatty acid	Diet group			Significant Difference
	Beef tallow	Corn oil	Fish oil	
Myristic acid (14:0)	2.6±0.31	0.9±0.11	4.5±0.58	abc
Palmitic acid (16:0)	19.6±1.66	18.2±1.19	26.6±0.87	ab
Palmitoleic acid (16:1 n-7)	8.3±0.42	0.6±0.14	11.4±0.71	abc
Stearic acid (18:0)	4.0±0.43	1.0±0.36	2.8±0.12	abc
Oleic acid (18:1 n-9)	55.8±1.77	33.8±0.38	24.1±0.61	abc
Linoleic acid (18:2 n-6)	7.1±0.50	44.6±0.91	8.3±1.06	bc
$\alpha$ -Linolenic acid (18:3 n-3)	—	0.5±0.03	0.5±0.04	a c
Arachidonic acid (20:4 n-6)	—	0.3±0.02	0.9±0.08	abc
EPA (20:5 n-3)	—	—	1.9±0.25	ab
DHA (22:6 n-3)	—	—	12.6±0.97	ab
Others	2.6±0.67	0.2±0.23	6.3±0.30	abc

Values represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. The alphabetic symbols represents the significant difference ( $p < 0.05$ ) between each diet group; (a), Beef tallow vs. Fish oil; (b), Corn oil vs. Fish oil; (c), Beef tallow vs. Corn oil.

した。その結果、肝臓において、魚油がD.A活性を抑制することが認められた。また $\beta$ -酸化系にかかわる酵素の一つであり、ミトコンドリア内において、3-ヒドロキシアシル-CoAから3-ケトアシル-CoAへの脱水素反応を触媒する3-HADについても測定したが、魚油は、コーン油に対しては有意に増加し、牛脂に対しては有意差はみられなかった。この $\beta$ -酸化系酵素活性に対する脂肪合成系酵素活性の比をとると、コーン油が著しく大きな比を示し、次いで牛脂、魚油の順であった。つまり脂肪酸の酸化反応に対する脂肪合成反応の大きさが、魚油ではコーン油や牛脂に比べて小さいということになる。このことを裏付けるように肝トリグリセライド量は、魚油がコーン油と牛脂に比べ有意に少なく、肝組織切片写真からも、脂肪滴の数と大きさがコーン油と牛脂に比べ少なく小さいことが確認された。このように、本研究結果においても魚油が肝臓での脂肪合成を抑制し、脂肪肝の予防や血中へのVLDL-TG放出の低下に寄与していることが確認された。

また血中の遊離脂肪酸を魚油が抑制する傾向がみられたが、これには脂肪細胞のトリグリセライドの分解が抑制されることで、脂肪組織からの脂肪酸の遊離が低下することが考えられる。脂肪組織においては、一般に、魚油の摂取により脂肪細胞の容積が減少し脂肪組織重量が低下することが認められており<sup>19)</sup>、本研究でも同様な結果を得た。Parrishら<sup>19)</sup>は、魚油が脂肪細胞容積を減少させる原因を脂肪組織での脂肪分解活性を促進することで説明している。しかし、魚油がカテコールアミンに対する脂肪分解を促進する知見<sup>20,21)</sup>が報告される一方で、

魚油は脂肪分解などラットの脂質代謝にはあまり影響を与えないとする報告<sup>22)</sup>や、逆に脂肪分解は魚油により抑制されるとする報告もみられる<sup>9,22,23)</sup>。本研究においても、魚油はノルエピネフリンによる脂肪分解活性を有意に低下させた。したがって、魚油は脂肪組織での脂肪分解を抑制することで、血中への脂肪酸の遊離を低下させ、筋肉や肝臓への脂肪酸の供給量を減少させていることが考えられる。またこれが、前述の肝臓の脂肪合成系酵素活性の抑制を招く原因の一つとも考えられる。

この場合、魚油を摂取することで、なぜ脂肪分解が抑制されたのかその原因を考えてみると、魚油が脂肪分解反応を促進することを報告した研究者らは<sup>19)</sup>、脂肪分解の値を脂肪組織のg湿重量当たりで表わし、脂肪細胞数当たりの値で算出していない。本研究では脂肪分解の値を脂肪細胞数当たりで表しているが、これをg湿重量当たりで算出すると、魚油の脂肪分解活性はコーン油や牛脂よりも高い値を示すようになる。脂肪細胞の生理機能を評価するためには、g湿重量よりも生命単位である細胞数当たりで表すべきだと思われる。魚油が脂肪細胞容積を縮小させるので、同じ湿重量の中に含まれる細胞数は、コーン油や牛脂に比べてかなり多くなる。その結果、細胞数で脂肪分解活性を除いた値は、逆に魚油では低くなる。魚油が脂肪分解を促進しているというParrishら<sup>19)</sup>の成績も、本研究同様脂肪細胞数当たりで表せば、魚油が脂肪分解を抑制するという結果になっていたはずである。ではなぜ魚油を摂取することで脂肪細胞は脂肪分解反応を低下させるのであろうか。今回の実験で、この脂肪分解反応の低下は、HSLよりもむしろ

基質であるLDにその原因のあることが明らかにされている (Fig. 8)。魚油によりHSL活性には何等変化はみられなかったが、LDとHSLを脂肪細胞から取り出し脂肪分解活性を無細胞系で測定した場合、LDを各群ラットから取り出し同一のHSLでカテコールアミンによる脂肪分解を測定した場合、魚油食群のLDで脂肪分解活性が低下することが明らかになった。このLD側の変化としては、表面のPC量がコーン油や牛脂に比べて多いという特徴がある (Fig. 12)。LD中の脂肪酸組成においても、摂取した脂質の脂肪酸組成をほぼ反映した結果が示され、魚油を摂取した場合のLD中には、やはりDHAやEPAなどのn-3系多価不飽和脂肪酸が多く含まれていた。このようなLD中のPCや脂肪酸の違いが、カテコールアミンによる脂肪分解にどのように関与しているかを明らかにするのは今後の課題である。なおOkudaら<sup>17),18)</sup>は、脂肪分解におけるカテコールアミンの作用点は、HSLではなくLDであることを明らかにしている。

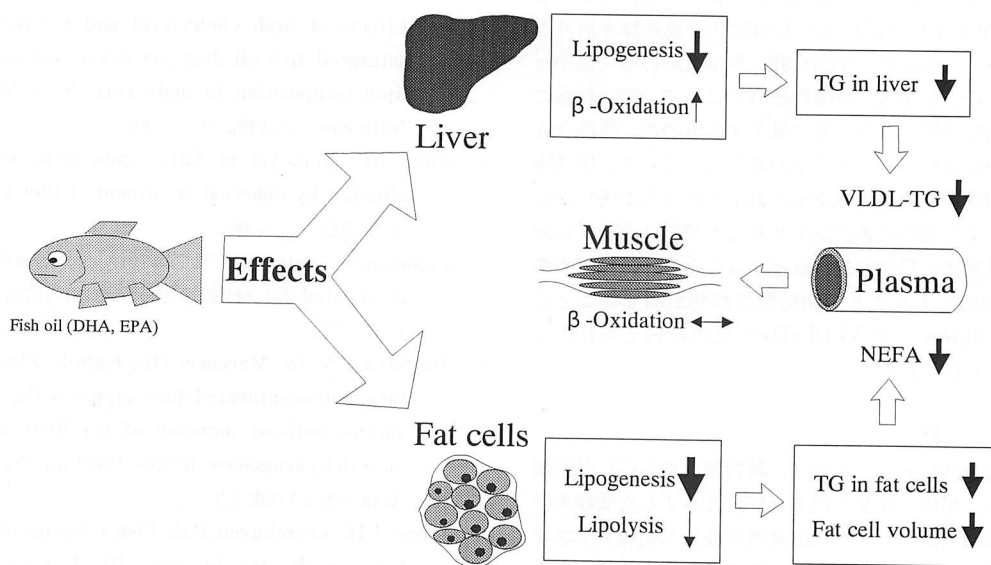
魚油を摂取することで脂肪組織重量が減少するにもかかわらず、脂肪分解反応が抑制されていたことには一見矛盾があるように思われる。しかし、脂肪合成反応がそれ以上に抑制されていれば、この矛盾は解消されることになる。脂肪合成反応に関して、Manchoら<sup>19)</sup>は、魚油がラット脂肪細胞のインスリンによるグルコース取り込み能を低下させることを報告している。本研究では、脂肪分解反応とともに脂肪合成反応を、肝臓と同じく脂肪

細胞においてもD.A活性の測定から検討した。その結果、魚油が脂肪細胞のD.A活性を低下させており、さらに、脂肪細胞や無細胞系におけるノルエピネフリンによる脂肪分解活性に対するD.A活性の比を算出した結果、やはり、魚油がコーン油や牛脂に比べて有意に小さい値を示した。このことから、魚油を摂取することで、脂肪分解反応は低下するものの脂肪合成反応の低下がそれを上回ることによって、脂肪細胞容積の減少を招くことが示唆された。

本研究の結果から考察した魚油の脂質代謝に及ぼす影響をまとめてみると (Scheme 1)、以下ようになる。

- 1) 脂肪細胞において脂肪合成能と脂肪分解能が抑制される。しかしその程度は脂肪合成の低下が脂肪分解のそれを上回るために、脂肪細胞容積が減少する。
- 2) 脂肪細胞の脂肪分解能が抑制されることで、血中に遊離する脂肪酸量が低下する。
- 3) 肝臓では脂肪酸の $\beta$ -酸化が亢進し、脂肪合成能が抑制される。その結果、肝TG量の増加は抑えられ、血中へのVLDL-TGの放出量が低下する。
- 4) 筋肉では脂肪酸の $\beta$ -酸化にはあまり影響を与えない。

このように、魚油の抗脂血症作用ならびに抗肥満作用は、脂肪細胞や肝臓などの脂質代謝単独の変化によるものではなく、各器官の変化が相互に関連して起きていることが示唆された。



Scheme 1 Effects of fish oil on lipid metabolism

## 概要と結論

n-3系多価不飽和脂肪酸に富む魚油の抗脂血症作用や抗肥満作用における機序を検討することを目的に、魚油、コーン油、牛脂をそれぞれ25%混合した飼料によりラットを飼育した。飼育終了後、血漿脂質量や肝脂質量も測定するとともに、HSL活性やノルエピネフリンによる脂肪分解活性（脂肪細胞を使用した系と無細胞系について調べた）、それに脂肪合成系酵素（Diglyceride Acyltransferase）活性ならびに $\beta$ -酸化系酵素（3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase）活性を測定した。その結果、魚油の摂取によって、体重、副腎丸脂肪組織重量、血漿脂質量、肝脂質量、脂肪細胞のノルエピネフリンによる脂肪分解活性は有意に低下した。また $\beta$ -酸化系酵素活性は、ヒラメ筋において各群間で有意差はみられなかったが、肝臓では、魚油食群がコーン油食群に比べ有意に低かった。無細胞系の脂肪分解活性においては、魚油食群から得た脂肪滴を使用した時の脂肪分解は、コーン油食群と牛脂食群の場合に比べ有意に低かったが、HSL活性には各群間に有意差はみられなかったことから、魚油による脂肪分解の抑制は脂肪滴側の変化による可能性が示唆された。また脂肪細胞の脂肪合成系酵素活性でも魚油食群が他の2群に比べ有意に低い値を示した。脂肪細胞における脂肪分解活性当たりの脂肪合成酵素活性の比を各群で比べると、魚油食群が他の2群に比べ有意に低かった。肝臓の脂肪合成系酵素活性も、魚油食群が他の2群に比べ有意に低い値を示し、肝臓における $\beta$ -酸化系酵素活性当たりの脂肪合成系酵素活性の比は、コーン油食群、牛脂食群、魚油食群の順に高かった。以上のことから、魚油の摂取によって、脂肪細胞における脂肪分解・合成ともに低下するものの、脂肪合成の低下が脂肪分解の低下を上回ることによって、脂肪細胞容積が減少し脂肪組織重量が低下することが明らかにされた。また脂肪分解が低下することで脂肪細胞から血液中に遊離する脂肪酸量が低下することや、肝臓での脂肪合成が低下することと脂肪酸の酸化が高まることによって、肝臓からのVLDL-TGの放出が抑えられることが明らかにされた。

## 謝 辞

本研究を遂行するに当たり、動物飼育ならびに試料測定に際し、懇切丁寧なご指導をいただきました愛媛大学医学部実験機器センター辻田隆廣助教授と愛媛大学医学部医化学第二教室森本千恵氏、電子顕微鏡用試料作成ならびに観察・撮影にご協力いただいた愛媛大学医学部実験機器センター首藤政親技官、3-HAD活性測定に関す

る資料を提供していただいた奈良教育大学大学院森田靖子氏、そして発表にあたり御指導と御校閲を賜りました愛媛大学医学部医化学第二教室奥田拓道教授に心より感謝いたします。また、動物飼育ならびに試料測定に際し、御指導と御協力をいただきました聖カタリナ女子大学中島滋教授と田原康玄講師にも感謝の意を表します。なお、本研究の一部は、財団法人愛媛県保健医療財団の助成により行われたものである。

## 文 献

1. Awad AB, Bernardis LL, Fink CS: Failure to demonstrate an effect of dietary fatty acid composition on body weight, body composition and parameters of lipid metabolism in mature rats. *J Nutr* 1990; 120: 1277-1282.
2. Bartlett GR: Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1959; 234: 466-468.
3. Bass A, Brdiczka PE, Hofer S, Pette D: Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem* 1969; 10: 198-206.
4. Belfrage P, Vaughan M: Simple liquid-liquid partition system for isolation of labeled oleic acid from mixtures with glycerides. *J Lipid Res* 1969; 10: 314-344.
5. Cameron JA, McCaskill C, Kodavanti PR, Wolfe F, Douglas B, Cameron ME, Desaiyah D: Effects of high cholesterol and n-3 polyunsaturated fish oil diets on tissue and serum lipid composition in male rats. *Int J Vitam Nutr Res* 1995; 65: 215-220.
6. Chen RF: Removal of fatty acids from serum albumin by charcoal treatment. *J Biol Chem* 1967; 242: 173-181.
7. Coleman R, Bell MB: Triacylglycerol synthesis in isolated fat cells. *J Biol Chem* 1976; 251: 4537-4543.
8. Da Silva LA, De Marcucci OL, Kuhnle ZR: Dietary polyunsaturated fats suppress the high sucrose-induced increase of rat liver pyruvate dehydrogenase levels. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1169: 126-134.
9. Danse LH, Verschuren PM: Fish oil-induced yellow fat disease in rats. III. Lipolysis in affected adipose tissue. *Vet Pathol* 1978; 15: 544-548.

10. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GA: Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; **226**: 497-509.
11. Hirsch J, Gallian E: Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. *J Lipid Res* 1968; **9**: 110-119.
12. Iritani N, Ikeda Y, Fukuda H: Physiological impairment in linoleic acid deficiency of rats and the effect of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Sci Vitaminol* 1984; **30**: 179-185.
13. Kobatake Y, Kuroda K, Jinnouchi H, Nishida E, Innami S: Differential effects of dietary eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids on lowering of triglyceride and cholesterol levels in the serum of rats on hypercholesterolemic diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 1984; **30**: 357-372.
14. Mancho L, Fickova M, Sebokova E, Mitkova A, Klimes I: Effect of dietary fish oil on 2-deoxy-D<sup>3</sup>H glucose uptake in isolated adipocytes of rats fed various diets. *Ann N Y Acad Sci* 1993; **683**: 237-243.
15. Nelson GJ, Kelley DS, Hunt JE: Effect of nutritional status on the fatty acid composition of rat liver and cultured hepatocytes. *Lipid* 1986; **21**: 454-459.
16. Ninomiya H, Morimoto C, Tsujita T, Sumida M, Okuda H: Biomodulator-mediated susceptibility of endogenous lipid droplets from rat adipocytes to hormone-sensitive lipase. *Biochem Med Metab Biol* 1990; **43**: 112-127.
17. Okuda H, Morimoto C, Tsujita T: Role of endogenous lipid droplets in lipolysis in rat adipocytes. *J Lipid Res* 1994; **35**: 36-44.
18. Okuda H, Morimoto C, Tsujita T: Effect of substrates on the cyclic AMP-dependent lipolytic reaction of hormone-sensitive lipase. *J Lipid Res* 1994; **35**: 1267-1273.
19. Parrish CC, Pathy DA, Parkes JG, Angel A: Dietary fish oils modify adipocyte structure and function. *J Cell Physiol* 1991; **148**: 493-502.
20. Rodbell M: Metabolism of isolated fat cells. *J Biol Chem* 1964; **239**: 375-380.
21. Rustan AC, Christiansen EN, Drevon CA: Serum lipids, hepatic glycerolipid metabolism and peroxisomal fatty acid oxidation in rats fed omega-3 and omega-6 fatty acids. *Biochem J* 1992; **15**: 283: 333-339.
22. Sebokova E, Klimes I, Hermann M, Pnchenko A, Mitkova A, Hromadova M: Modulation of the hypolipidemic effect of fish oil by inhibition of adipose tissue lipolysis with acipimox, a nicotinic acid analog. *Ann N Y Acad Sci* 1993; **683**: 183-191.
23. Topping DL, Illman RJ, Roach PD, Trimble RP, Kambouris A, Nestel PJ: Modulation of the hypolipidemic effect of fish oils by dietary fiber in rats: studies with rice and wheat bran. *J Nutr* 1990; **120**: 325-330.
24. Topping DL, Trimble RP, Storer GB: Failure of insulin to stimulate lipogenesis and triacylglycerol secretion in perfused livers from rats adapted to dietary fish oil. *Biochim Biophys Acta* 1987; **927**: 423-428.
25. 植木章三, 田原康玄, 中島 滋, 土屋隆英, 奥田拓道: 脂肪細胞の脂質代謝に及ぼす魚油摂取の影響. *体力科学* 1997; **46**: 732.
26. Wong SH, Nestel PJ, Trimble RP, Storer GB, Illman RJ, Topping DL: The adaptive effects of dietary fish and safflower oil on lipid and lipoprotein metabolism in perfused rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1984; **792**: 103-109.
27. Zampelas A, Morgan LM, Furlonger N, Williams CM: Effects of dietary fatty acid composition on basal and hormone-stimulated hepatic lipogenesis and on circulating lipids in the rat. *Brit J Nutr* 1995; **74**: 381-392.