

高脂肪食飼育ラットの脂質代謝におよぼす カルニチンおよび運動負荷の影響

辻 原 命 子, 谷 由 美 子

(名古屋女子大学家政学部)

平成 8 年 2 月 23 日受理

Effects of Carnitine Administration and Voluntary Exercise on the Lipid Metabolism of Rats Fed on a High-Fat Diet

Nobuko TSUJIHARA and Yumiko TANI

Faculty of Home Economics, Nagoya Women's University, Nagoya 467

The effects were investigated of orally administering carnitine and voluntary exercise on the lipid metabolism of rats fed on a high-fat diet. Male Wistar rats weighing about 250 g were divided into non-exercise and exercise groups, and each group was subdivided into carnitine-treated (100 mg/day) and non-treated groups. The exercise groups were fed in a cage provided with a wheel for exercise. All the rats were fed on a high-fat diet for 4 weeks, the exercise and carnitine treatment being given during the latter 2 weeks.

The food intake increased after the carnitine treatment. Body weight gain and the quotient of abdominal adipose tissue/body weight only decreased in the exercise group. Both in the carnitine-treated exercise and non-exercise groups, serum triglyceride, and cholesterol, triglyceride and TBA value in the liver all decreased, while β -hydroxybutyric acid in the serum increased. In the carnitine-treated exercise group, serum total cholesterol, triglyceride, TBA value and lipids in the liver all decreased, while serum β -hydroxybutyric acid increased in comparison with the non-exercise control group. These results suggest that the oral administration of carnitine during exercise improved the lipid metabolism of rats.

(Received February 23, 1996)

Keywords: carnitine カルニチン, voluntary exercise 運動負荷, lipid metabolism 脂質代謝, high-fat diet 高脂肪食.

1. 緒 言

長鎖脂肪酸はミトコンドリア内で β -酸化を受けてエネルギーとして利用されるが、単独ではミトコンドリア膜を通過できず、カルニチンと結合してアシルカルニチンの形となって初めてミトコンドリア内へ移動する。山川ら¹⁾、前田ら²⁾は腹膜炎ラットにカルニチンを補充投与することによりエネルギー代謝が改善したと報告しており、桐山³⁾は敗血症ラットを用いた実験で脂質非投与群に対し、脂質投与群の予後は不良であるが、カルニチンの併用によってその改善を認めたと報告している。また嶋⁴⁾は、敗血症時における脂肪

乳剤投与は生存率の低下、脂質代謝障害などをもたらすが、カルニチンの併用により改善したことを報告している。これらの報告により、重症感染症時のような侵襲状態ではエネルギー需要が増加するにもかかわらず脂質利用は低下しており、このような時カルニチン投与により脂質代謝が改善することが認められている。また近年、日本人の食事において動物性脂肪が増加しており、食生活と成人病との関連が注目されている。

そこで私たちは脂質代謝の亢進状態を想定して、ラットにコレステロール (Chol) を含む高脂肪食を投与した場合および運動を負荷した場合にカルニチンを投

与して、長鎖脂肪酸の酸化の促進および脂肪の蓄積や肥満抑制など脂質代謝系の改善効果を検討することを目的として本研究を行った。

2. 実験方法

(1) 動物飼育法

8週齢（体重240～260 g）Wistar系雄ラット（日本エスエルシー（株）24匹を用い、非運動群と運動群の2群に分け、さらに各々対照区およびカルニチン投与区に分け、各々6匹ずつとした。いずれの群も購入後1週間（株）日本クレアの粉末飼料（CE-2）を投与して予備飼育した後、Table 1に示す組成の高脂肪食を4週間投与した。後半の2週間にカルニチン投与区にはカルニチン（100 mg/匹/日）を添加し、運動群は回転車付き運動ケージで自由運動を負荷した。飼料および水（水道水）は自由摂取させた。飼育は各群個別ケージで室温22±1℃、相対湿度55±5%、1日12時間採光下（8:00 a.m.～8:00 p.m. 明所）の空調動物室内で行った。なおカルニチンの投与量はRodriguesら⁵⁾の糖尿病ラットにL-カルニチン250 mg/kg/日経口投与で効果を認めた報告をもとに設定した。飼育期間中、週2回体重を測定し、飼料摂取量は毎日の投与量より残量を差し引いて算出した。飼育期間最終日に1晩（9:00 p.m.～9:30 a.m.）絶食させ、エーテル麻酔下で解剖採血し、肝臓、心臓、および腹腔内脂肪（腎臓、睪丸、副睪丸周囲および壁側脂肪）を摘出して重量を測定し、腹腔内脂肪の体重比率を腹腔脂肪率とした。血清の総コレステロール（以下T-Cholと略記）、HDL-コレステロール（以下HDL-Cholと略記）、

中性脂肪（以下TGと略記）、遊離脂肪酸（以下NEFAと略記）、2-チオバルビツール酸価（以下TBA価と略記）、 β -ヒドロキシ酪酸、肝臓のChol、総脂質（以下TLと略記）、TG、TBA価について測定した。

(2) 血清成分の分析

T-CholおよびHDL-Cholは和光純薬工業（株）のコレステロールEテストワコー（コレステロールオキシダーゼ・DAOS法）とHDL-コレステロールワコー（ヘパリン・マンガン結合沈殿法）を用いた。TGは日本商事（株）のネスコートTGキット（L-グリセロール-3リン酸オキシダーゼ・酵素法）、TBA価は八木式蛍光法⁶⁾で測定した。NEFAは和光純薬工業（株）のNEFA-Cテストワコー（ACS・ACOS法）を用いて測定した。 β -ヒドロキシ酪酸は（株）三和化学研究所のケトンテスト「三和」を用いた。

(3) 肝臓脂質成分の分析

肝組織1 gを用い、クロロホルム・メタノール（v/v 2:1）混液で磨碎抽出した後定容し、試料溶液とした。肝TLは重量法で、肝CholはZak-Henly法⁷⁾で、肝TGは和光純薬工業（株）のキット試薬TGテストワコー（アセチルアセトン比色法）を用いて測定した。肝TBA価は真杉ら⁸⁾の方法により測定した。

(4) 肝臓および心臓のカルニチン量の測定

肝臓および心臓の総カルニチン量は臓器よりTris-HCl buffer (pH 7.4) で抽出後TCAで除たん白し、旭化成（株）の総カルニチン測定キットを用いて測定した。

3. 結果および考察

(1) 体重増加率、平均飼料摂取量および腹腔脂肪率について

体重増加率、平均飼料摂取量および腹腔脂肪率はTable 2に示した。非運動群においては対照区に比べてカルニチン投与区で平均飼料摂取量が増加したが、体重増加率および腹腔脂肪率に差はなかった。運動群ではカルニチン投与区（運動量のM±SEは550±76 m/日）は対照区（運動量のM±SEは492±62 m/日）に比べて平均飼料摂取量が増加したにもかかわらず、体重増加率および腹腔脂肪率は有意に低下した。非運動群、運動群とも余分に摂取したエネルギーは、カルニチンによる脂肪酸の酸化促進作用によって処理され、特にエネルギー消費が亢進している運動群においてカルニチンの効果が顕著に表れたものと考えられる。またカルニチン投与群では、非運動区に比べて運動区で平均飼料摂取量に差はなかったが、体重増加率、腹腔

Table 1. Composition of the high-fat diet

Ingredient	(%)
Corn starch ^{*1}	51.75
Casein ^{*1}	20
Lard ^{*2}	20
Cellulose ^{*3}	2
Mineral mixture ^{*3}	4
Vitamin mixture ^{*4}	1
Cholesterol ^{*5}	1
Sodium cholate ^{*5}	0.25

^{*1} Japan Clea Co., Tokyo. ^{*2} Yoneyama Reagent Industries Co., Osaka. ^{*3} This is identical to Harper's mixture.²²⁾ ^{*4} Oriental Yeast Co., Tokyo. ^{*5} Kanto Chemical Co., Tokyo.

高脂肪食飼育ラットの脂質代謝におよぼすカルニチンおよび運動負荷の影響

脂肪率とも有意に減少し、運動の効果も著しく認められた。

(2) 血清成分について

血清成分の測定結果は Table 3 に示した。非運動群においては対照区に比べてカルニチン投与区は T-Chol, HDL-Chol, TG, TBA 価が減少し、 β -ヒドロキシ酪酸が増加した。運動群においてもカルニチン投与区は HDL-Chol, TG および β -ヒドロキシ酪酸については非運動群と同様の結果を示し、NEFA は対照区に比べて増加した。TBA 価は対照区と差は認められなかったが、非運動・対照区より低下した。T-Chol は非運動群と相違してカルニチン投与区で増加したが、

Table 2. Effect of carnitine on the body weight gain, food intake and abdominal adipose tissue of rats fed on the high-fat diet

Group	Body weight gain* ¹ (%)	Food intake* ² (g/day)	Abdominal adipose tissue* ³ (%)
Non-exercise			
Control	131 $\pm$ 2	14.7 $\pm$ 0.4	2.9 $\pm$ 0.2
Carnitine	133 $\pm$ 1	16.3 $\pm$ 0.3 ^a	2.9 $\pm$ 0.2
Exercise			
Control	134 $\pm$ 2	15.1 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.1
Carnitine	124 $\pm$ 1 ^{a, b, c}	16.3 $\pm$ 0.3 ^{a, b}	1.6 $\pm$ 0.1 ^{a, b, c}

Each value is the mean $\pm$ SE for six rats. *¹ Expressed as % of the initial body weight. *² Average food intake over the experimental period (2 weeks). *³ Ratio to the final body weight. ^{a, b, c} Significantly different at $p < 0.05$ from the ^a non-exercise control group, ^b exercise control group, and ^c non-exercise carnitine group as determined by Student's *t*-test.

非運動・対照区より低下した。TG は、非運動群、運動群ともカルニチン投与によって低下した。カルニチンによる TG の低下効果については健康な男性⁹ やタイプ IV の高リポたん白血症患者¹⁰ について報告があり、Carlo ら⁹ はカルニチンがリポプロテインリパーゼを活性化して血清 TG が低下したと推測している。血清 TG と HDL は逆相関性を示すことが多く報告されているが^{11, 12} 本研究では HDL-Chol も TG と同様に低下した。非運動群の場合は、T-Chol がカルニチン投与区で低下したためその影響が考えられるが、運動群では T-Chol が増加傾向を示したにもかかわらず、HDL-Chol は低下しており、カルニチン投与によって Chol の質的改善はみられなかった。山川ら¹³ はカルニチンによる β -酸化の指標である β -ヒドロキシ酪酸の増加を認めており、著者らも非運動群、運動群ともカルニチン投与区で同様の増加がみられ、脂肪酸の酸化亢進が推測された。NEFA は運動群においてカルニチン投与区で著しく増加しており、NEFA は脂肪組織により放出されたものが大部分といわれていることより、腹腔脂肪率が運動群のカルニチン投与区で減少したのは、腹腔脂肪の NEFA への分解がエネルギー消費の増加している運動群で著しく亢進したものと思われる。

一方、NEFA の利用には筋、その他の末梢組織において直接エネルギー源として利用されるものと、肝臓において摂取され、LDL、ケトン体などに変換された後、間接的に末梢組織に利用されるものがある¹³ ことは知られている。運動・カルニチン投与区の NEFA の増加は、運動によるエネルギー需要の増加に対して、NEFA を筋肉などの組織に取り込んで、エネルギー化させるためにカルニチン量が十分対応できなかったためか、原因は不明である。

Table 3. Effect of carnitine on the serum components of rats fed on the high-fat diet

Group	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	NEFA (mEq/l)	β -Hydroxy butyric acid (mmol/l)	TBA value (nmol/ml)
Non-exercise						
Control	104.5 $\pm$ 1.9	38.4 $\pm$ 1.6	56.4 $\pm$ 0.4	0.73 $\pm$ 0.04	1.71 $\pm$ 0.08	2.8 $\pm$ 0.2
Carnitine	88.3 $\pm$ 2.2 ^a	23.8 $\pm$ 0.6 ^a	34.4 $\pm$ 2.4 ^a	0.74 $\pm$ 0.03	3.42 $\pm$ 0.19 ^a	1.6 $\pm$ 0.1 ^a
Exercise						
Control	74.1 $\pm$ 2.9	39.7 $\pm$ 0.9	40.5 $\pm$ 1.4	0.66 $\pm$ 0.06	1.38 $\pm$ 1.16	1.3 $\pm$ 0.1
Carnitine	79.0 $\pm$ 1.6 ^{a, c}	26.5 $\pm$ 0.7 ^{a, b, c}	28.8 $\pm$ 1.5 ^{a, b}	0.89 $\pm$ 0.02 ^{a, b, c}	2.49 $\pm$ 0.15 ^{a, b, c}	1.3 $\pm$ 0.2 ^a

Each value is the mean $\pm$ SE for six rats. ^{a, b, c} Significantly different at $p < 0.05$ from the ^a non-exercise control group, ^b exercise control group, and ^c non-exercise carnitine group as determined by Student's *t*-test.

Table 4. Effect of carnitine on the liver lipids of rats fed on the high-fat diet

Group	Total lipids (g/100g)	Cholesterol (g/100g)	Triglyceride (g/100g)	TBA value (nmol/g)
Non-exercise				
Control	24.8±1.3	7.65±0.17	8.8±0.7	53.9±1.8
Carnitine	21.7±0.9 ^a	7.29±0.04 ^a	7.6±0.5 ^a	44.4±0.7 ^a
Exercise				
Control	19.6±0.7	7.86±0.14	7.9±0.2	50.0±1.3
Carnitine	19.1±0.5 ^{a,c}	6.76±0.28 ^{a,b}	4.0±0.4 ^{a,b,c}	46.9±0.9 ^{a,b}

Each value is the mean±SE for six rats. ^{a,b,c} Significantly different at $p<0.05$ from the ^a non-exercise control group, ^b exercise control group, and ^c non-exercise carnitine group as determined by Student's *t*-test.

カルニチン投与群において、非運動区に比べて運動区で T-Chol, β -ヒドロキシ酪酸が低下、TG は低下傾向を示し、NEFA および HDL-Chol は増加した。運動負荷による TG の低下^{14,15)} および HDL-Chol の上昇^{14,16)} は広く認められており、運動・カルニチン投与区における TG の著しい低下は、両者の相乗効果と考えられる。 β -ヒドロキシ酪酸は TG と相違して、カルニチンによって増加し、運動負荷で低下し、いずれも脂質の利用を促進すると考えられるが、相反する結果を示した。Chol については、T-Chol は対照群、カルニチン投与群とも運動区で低下し、HDL-Chol はカルニチン投与群では運動区で上昇し、カルニチンの影響より運動負荷の効果の方が著しかった。

(3) 肝脂質成分について

肝脂質成分の測定結果は Table 4 に示した。非運動群ではカルニチン投与区は対照区に比べてすべての脂質が有意に低下、運動群では Chol, TG および TBA 価が低下した。TL は運動・対照区と差はみられなかったが、非運動・対照区より低下した。運動・カルニチン投与区は非運動・対照区に比べてすべての肝臓脂質において改善が認められ、運動・対照区に比べて TL 以外の脂質はすべてカルニチン投与によって低下した。TBA 価は過酸化脂質の量をあらわすが、過酸化脂質の毒性についてはすでに多くの研究が行われており、大腸粘膜細胞において発癌プロモーターとして作用するという説¹⁷⁾もある。非運動群では TBA 価が血清、肝臓ともカルニチン投与区で低下し興味深い。

カルニチン投与群において非運動区に比べて、運動区で TL, TG とも低下し、TG は血清の場合と同様にカルニチンと運動負荷の相乗効果によって運動・カルニチン投与区で著しく低下した。

Table 5. Effect of carnitine administration on the liver and heart carnitine levels in rats fed on the high-fat diet

Group	Liver carnitine (μ mol/g)	Heart carnitine (μ mol/g)
Non-exercise		
Control	0.29±0.01	0.91±0.05
Carnitine	0.64±0.02 ^a	1.02±0.05 ^a
Exercise		
Control	0.18±0.02	0.56±0.15
Carnitine	0.40±0.03 ^{a,b,c}	0.72±0.02 ^{a,b,c}

Each value is the mean±SE for six rats. ^{a,b,c} Significantly different at $p<0.05$ from the ^a non-exercise control group, ^b exercise control group, and ^c non-exercise carnitine group as determined by Student's *t*-test.

(4) 肝臓および心臓の総カルニチン量について

肝臓および心臓のカルニチン量は Table 5 に示した。肝臓および心臓のカルニチン量については対照区に比べてカルニチン投与区で非運動群、運動群とも有意に増加した。カルニチンは筋肉、腎臓などの組織でリジン、メチオニンから前駆物質である γ -ブチロベタインまで合成された後、肝臓へ運ばれて水酸化を受けて生合成が完成する¹⁸⁾。すなわちカルニチンの生合成の完成する肝臓においても、またカルニチンを生合成しないので必要なカルニチンを血液より取り込む心臓においても同様にカルニチン投与の影響がみられた。

一方、カルニチン投与群において、非運動区に比べて運動区で肝臓および心臓の総カルニチン量は低下し、運動負荷によるカルニチンの消耗が推察された。腹膜炎など重症感染症時にはエネルギー需要の増加があるにもかかわらず長鎖脂肪酸や TG の利用が抑制されて

高脂肪食飼育ラットの脂質代謝におよぼすカルニチンおよび運動負荷の影響

おり、その原因の一つに組織中カルニチン濃度の低下が指摘されている¹⁹⁾。したがってこのようなカルニチンの相対的不足状態のときにカルニチンを添加すればその効果は顕著にみられ、腹膜炎¹⁾²⁾⁴⁾、敗血症³⁾、高脂血症¹⁰⁾、糖尿病⁵⁾、尿毒症²⁰⁾などの疾病時について多くの報告がある。

本研究においても高脂肪食摂取や運動負荷等脂質代謝が亢進し、カルニチンが相対的に不足した状態を想定してカルニチン投与の効果を検討した結果、非運動群、運動群ともカルニチン投与効果は認められたが特に運動・カルニチン投与区において脂質代謝の改善が著しかった。Siliprandi ら²¹⁾は、カルニチンが長鎖脂肪酸の代謝のみならず、激しい運動負荷時にカルニチンを添加するとピルビン酸脱水素酵素活性を亢進して、ピルビン酸、乳酸などの酸化を促進し、一方で分岐鎖アミノ酸の酸化を抑制するなど、他のエネルギー代謝系にも影響することを報告しており、高糖質食由来の肥満に対するカルニチンの効果も興味深い問題である。

4. 要 約

8 週齢の Wistar 系雄ラットにカルニチンを投与して長鎖脂肪酸の酸化を促進し、脂肪の蓄積や肥満の抑制など脂質代謝系の改善効果があるかどうか、高脂肪食および運動負荷した場合について検討した。

ラットを非運動群（対照区、カルニチン投与区）、運動群（対照区、カルニチン投与区）に分け、4 週間高脂肪食で飼育して最後の 2 週間にカルニチン投与（100 mg/匹/日）および自由運動を負荷した。カルニチン投与によって飼料摂取量が増加したにもかかわらず、非運動群では体重増加率および腹腔脂肪率は対照区と差がなく、運動群ではいずれも低下した。非運動群、運動群ともカルニチン投与区で血清 TG、肝臓の Chol、TG および TBA 価は低下した。非運動・対照区に比べて運動・カルニチン投与区は血清 T-Chol、TG、TBA 価および肝臓脂質はすべて低下し、血清 β -ヒドロキシ酪酸は増加してカルニチン投与による脂質代謝の改善効果が認められた。特に TG は血清、肝臓ともカルニチンおよび運動負荷の相乗効果が認められた。

最後に、カルニチンを提供していただきました松平天然物研究所に感謝いたします。

引 用 文 献

- 1) 山川 満, 前田 純, 三村芳和, 杉崎勝好, 藤田豊樹, 古屋清一, 大原 毅: 日外会誌, **89**, 1335~1358 (1988)
- 2) 前田 純, 山川 満, 藤田豊樹, 三村芳和, 西原 寛, 古屋清一, 大原 毅, 近藤芳夫: 日本静脈経腸栄養誌, **1**, 56~57 (1986)
- 3) 桐山正人: 十全医会誌, **95**, 619~632 (1986)
- 4) 嶋 裕一: 外科と代謝・栄養, **23**, 45~55 (1989)
- 5) Rodrigues, B., Seccombe, B. and McNeill, J.H.C.J.: *Physiol. Pharmacol.*, **68**, 1601~1608 (1990)
- 6) 八木國夫: ビタミン, **49**, 403~405 (1975)
- 7) 上田英夫: 臨床検査法, 杏林書院, 東京, 398~400 (1969)
- 8) 真杉文紀, 中村哲也: ビタミン, **51**, 21~29 (1977)
- 9) Carlo, S.R. and Noris, S.: *Johns Hopkins Med. J.*, **150**, 51~53 (1982)
- 10) Maebashi, M., Kawamura, N., Sato, M., Iwamura, A. and Yoshinaga, K.: *Lancet*, 805~807 (1978)
- 11) Nikkila, E.A. and Ritta Taskinen, M.: *Lancet*, 892 (1978)
- 12) Hulley, S.B., Cohen, R. and Widdowson, G.: *JAMA*, **238**, 2269~2271 (1977)
- 13) 原 一郎, 細谷憲政, 高橋善弥太, 内藤周幸: 臨床脂質化学, 医学書院, 東京, 334~341 (1972)
- 14) 今木雅英, 大栗美保, 中村武夫, 棚田成紀: 生活衛生, **39**, 67~73 (1995)
- 15) 吉岡利治, 藤沢謙一郎, 稲田圭子, 長田喜美子, 小林敏枝: 信州大教育学部紀要, No. 80, 167~171 (1993)
- 16) 樋口 満: 体力科学, **44**, 35~36 (1995)
- 17) 寺尾純二: 化学と生物, **30**, 256~263 (1991)
- 18) Tao, R.C. and Yoshimura, N.N.: *JPEN*, **4**, 469~486 (1980)
- 19) Border, J.R., Burns, G.P., Rumph, C. and Schek, W.G.: *Surgery*, **68**, 175~179 (1970)
- 20) Basile, C., Lacour, B., Giulio, S.D. and Drueke, T.: *Nephron*, **39**, 50~54 (1985)
- 21) Siliprandi, N., Lisa, F.D., Pieralisi, G., Rapari, P., Maccari, F., Menado, R., Giamberardino, M.A. and Vecchiet, L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1034**, 17~21 (1990)
- 22) Harper, A.E.: *J. Nutr.*, **68**, 405~418 (1959)