

## 原 著

## 標識脂肪乳剤を用いた脂肪乳剤構成成分の体内動態の解明

\*瀧藤 克也 谷村 弘 馬庭 芳朗  
福 昭人 山本 基 佐原 稚基

現在用いられている静注用脂肪乳剤は長鎖中性脂肪をリン脂質であるレシチンで乳化したものであり、そのうち中性脂肪はいずれの代謝経路を経るにせよ、主として肝に取り込まれてよく代謝される。しかし、乳化剤として添加されているレシチンの代謝については全く解明されていない。そこで、人工脂肪粒子の体内動態に関し、主成分である中性脂肪と乳化剤であるリン脂質に分けてその動きを個別に測定した。その結果、1) 投与直後すでに脂肪乳剤中に乳剤粒子とリン脂質のみからなるミセル粒子が存在する。2) そのうち乳剤粒子は投与60分後までに速やかに血中から消失し、主として肝に取り込まれ、そこで代謝される。3) リン脂質からなるミセル粒子は肝には徐々にしか取り込まれず、血中に永く残留する。4) 脂肪乳剤として投与したリン脂質は投与直後より副腎および唾液腺に高濃度に分布することが初めてわかった。

## 脂肪乳剤, リン脂質, 全身オートラジオグラム

## はじめに

現在用いられている静注用脂肪乳剤は長鎖中性脂肪をリン脂質であるレシチンで乳化したものであり、その構造は界面のエネルギーの関係から球形を呈し、中性脂肪を中心とし、その周囲に乳化剤であるレシチンが親水基を外方に、疎水基を内方に向け規則正しく並んでいる。そのうち、中性脂肪はいずれの代謝経路を経るにせよ、主として肝に取り込まれてエネルギー源として利用されるか、肝で新しい脂肪に再合成された後にVLDLとして末梢の脂肪組織に運ばれる。しかし、乳化剤として添加されているレシチンの輸注後の体内動態については全く解明されていない。今回、われわれはレシチンを標識した脂肪乳剤と中性脂肪を

標識した脂肪乳剤の2種類を用いて、両者の体内分布を比較検討した。

## 対象と方法

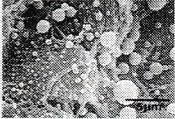
## 1. 標識脂肪乳剤の作成

$^3\text{H}$  標識レシチンは choline-methyl 基を  $^3\text{H}$  でラベルした phosphatidyl choline (DuPont, Lot 2735-060) を用いた。 $^3\text{H}$  標識レシチンに大豆より抽出し精製した純度95%以上の phosphatidyl choline (epikuron 200) を加え全量で1.2%とし、これで10%大豆油を乳化してレシチン標識乳剤10 mlを作成した。

$^3\text{H}$  標識トリオレインはオレイン酸を  $^3\text{H}$  でラベルした triolein (DuPont, Lot 2679-051) を用いた。 $^3\text{H}$  標識トリオレインに大豆油を加え全量で10%とし、これを1.2% epikuron 200 で乳化して中性脂肪標識乳剤100 ml作成した。

1991年12月10日受付: 1992年2月2日採用決定  
\*和歌山県立医科大学消化器外科: 和歌山市7-27 (☎640)  
第1回近畿輸液・栄養研究会発表 (1991年10月)

表1 作成した脂肪乳剤の製剤安定性

乳化法	超音波ホモジナイザー		加圧ホモジナイザー
乳化量	10 ml	100 ml	10%イントラリピッド®
平均粒径 (nm)	273±9.2	272±10.0	231±13.4
走査電顕像			

乳剤の作成にあたっては液晶乳化法を応用し<sup>1)</sup>、ウルトラホモミキサー（特殊機化工業）にて初乳化後、超音波（Branson Sonifier, 450型）で精乳化した。

2. 標識脂肪乳剤の製剤安定性

安定性の評価は、10 mlおよび100 mlの作成条件で作成した非標識脂肪乳剤および対照として10%イントラリピッド®で行った。それぞれの脂肪乳剤の平均粒径（光散乱法：Coulter, Model N 4）を測定し、走査電子顕微鏡（日立, S 2300型）により脂肪粒子を直接観察した。

3. レシチンおよび中性脂肪の体内動態

1) 組織内放射能活性の測定（各群 n=5）

8週齢のWistar系雄性ラットに24時間絶食後、エーテル麻酔下に尾静脈よりこれら標識脂肪乳剤をone shot 静注した。作成条件により、投与放射能量はレシチン標識乳剤で5.1 MBq/kg、中性脂肪標識乳剤で11.1 MBq/kgとなったが、両乳剤投与ともいずれの組織でも十分な放射能が得られた。

投与後5, 60, 120分後に再度エーテル麻酔を行い、断頭採血にて全血および血漿を採取した後、生理食塩水で下大静脈より各臓器を灌流し、血液を洗い流した後に、肝と肺を採取した。これらの各組織100~500 mgを秤量し、コンバストコーン（Packard）に採取し、サンプル・オキシダイザー（Packard, Model 306）で燃焼処理した後、キシレン系液体シンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンター（Packard, Tri-carb 4530）

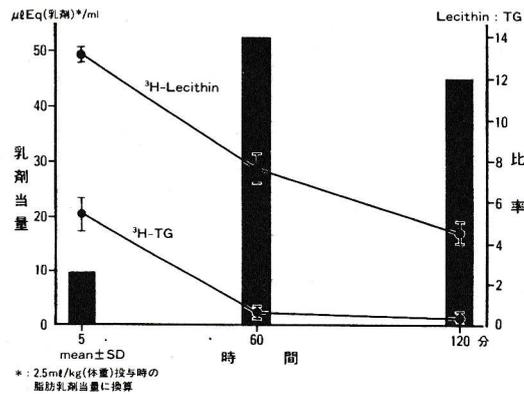


図1 標識脂肪乳剤投与後の血漿 Lecithin および TG 濃度（各群 n=5）

でそれぞれの放射能を測定した。組織内放射能濃度は脂肪乳剤として2.5 ml/kg投与時の脂肪乳剤当量に換算した。また、体内放射能分布率は投与した総放射エネルギーに対する組織内総放射エネルギーの割合で表した。

2) 全身オートラジオグラム

同様にレシチン標識乳剤 34.5 MBq/kgをラットに投与後、5, 60, 120分後に再度エーテル麻酔を行い、-70°Cのアセトン・ドライアイス混液中でラットを凍結殺処分した。これを-20°Cのクリオスタット中に設置したマイクローム（LKB, Model 2250）を用いて厚さ40 μmの全身縦薄切片を作成し、マクロオートラジオグラフィ用フィルム（Amersham, RPN. 12）を密着させ、-20°Cで40日間露光し、全身オートラジオグラムを作成した。

成績

1. 標識脂肪乳剤の製剤安定性

超音波ホモジナイザーで作成した全量10 mlおよび100 mlの脂肪乳剤は外見上市販のイントラリピッド®と全く差がなかった。平均粒径は10 ml作成時で273 nm、100 ml作成時で272 nmと作成量により差はなかったが、イントラリピッド®の231 nmに比べやや大きかった。しかし、走査電子顕微鏡による観察では、1 μm以上の粒子はほとんど存在せず、粒子の凝集破壊像も認めなかった

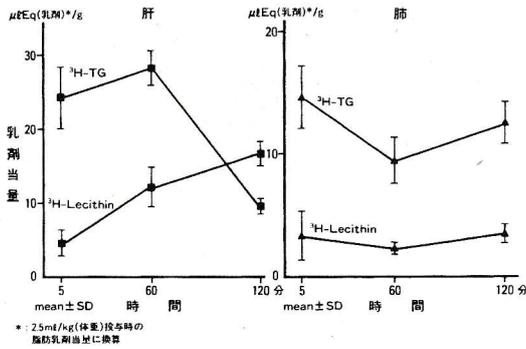


図2 標識脂肪乳剤投与後の組織内 Lecithin および TG 濃度 (各群 n = 5)

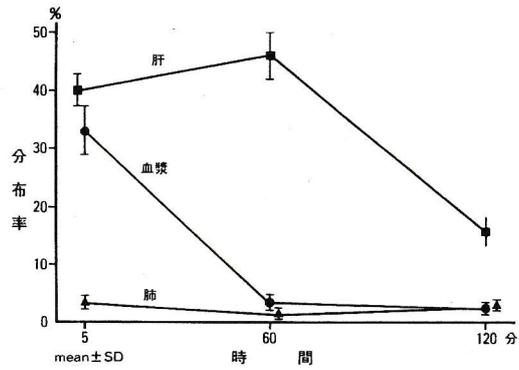


図4 TG 標識乳剤投与後の体内分布 (<sup>3</sup>H-TG 11.1 MBq/kg投与, 各群 n = 5)

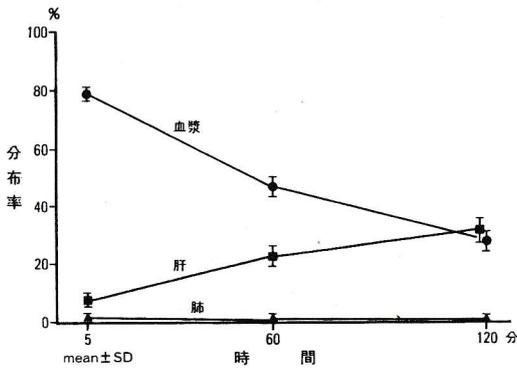


図3 Lecithin 標識乳剤投与後の体内分布 (<sup>3</sup>H-Lecithin 5.1 MBq/kg投与, 各群 n = 5)

μEq (乳剤)/g と高濃度であった。その後、レシチンは経時的に上昇し、120分後には 16.7 μEq (乳剤)/g となったが、中性脂肪は 60分後にピークに達し 120分後には 9.7 μEq (乳剤)/g と低下した。また、肺でのレシチン濃度は投与 5分後に 3.4 μEq (乳剤)/g であったのに対し、中性脂肪は 14.7 μEq (乳剤)/g と高濃度であった (図 2)。

投与した標識脂肪乳剤の主要組織への分布率では、レシチンは投与 5分後で血漿に 78.4%、肝に 7.7% 分布した後は、血漿では経時的に減少、肝では経時的に増加して、120分後にはそれぞれ 27.4%、31.7% と肝の方が多くなった (図 3)。

一方、中性脂肪は投与 5分後よりすでに肝によく移行し、血漿より高い分布率を示した。その後は血漿の分布率が速やかに減少したが、肝では 60分後に 46.5% とピークに達した後、120分後に 15.8% と減少した (図 4)。肺への分布率はレシチン、中性脂肪ともいずれの時点でも少なかった。

## 2. 全身オートラジオグラム

レシチン標識乳剤による全身オートラジオグラムではレシチンは投与 5分後に血液のほかに副腎と唾液腺に高濃度に分布した (図 5)。60分後になるとレシチンは徐々に肝および脾に移行し、副腎と唾液腺では依然高濃度を呈した (図 6)。120分後では、レシチンはさらに肝と脾に移行し、血液よりも高濃度となった。また、副腎は依然高濃度を呈したが、唾液腺では濃度が低下した (図 7)。

(表 1)。

## 2. レシチンおよび中性脂肪の体内動態

投与した血漿中レシチン濃度は投与 5分後で 49.1 μEq (乳剤)/ml であったのに対し、中性脂肪は 20.9 μEq (乳剤)/ml であり、その比は 2.3 : 1 であった。投与 60分後には、中性脂肪はほとんど血中から消失したのに対し、レシチンはまだ高濃度を呈し、その比は 14 : 1 と大きくなった。さらに 120分後でも、レシチンは依然血中に残存し、その比は 12 : 1 と解離したままであった (図 1)。ここで、投与 5分後から 60分後までの血漿からの消失量を見ると、レシチンは 20.1 μEq (乳剤)/ml であり、中性脂肪の 16.7 μEq (乳剤)/ml と差がなかった。

一方、肝でのレシチン濃度は投与 5分後には 4.7 μEq (乳剤)/g であったが、中性脂肪は 24.4

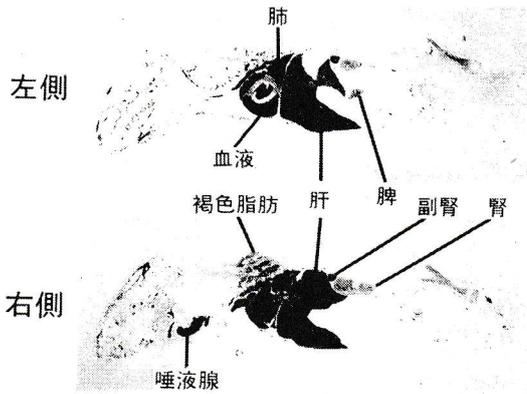


図5 Lecithin 標識乳剤による全身オートラジオグラム (投与後5分)

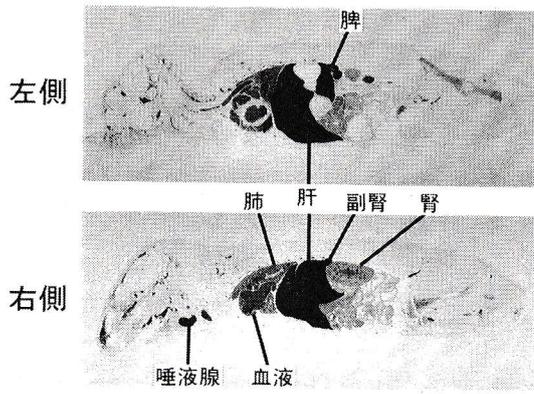


図7 Lecithin 標識乳剤による全身オートラジオグラム (投与後120分)

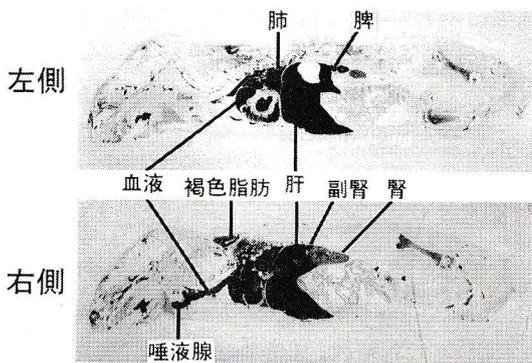


図6 Lecithin 標識乳剤による全身オートラジオグラム (投与後60分)

### 考察

現在用いられている静注用脂肪乳剤は中性脂肪をレシチンで乳化したものであり、その構造は界面のエネルギーの関係から球形をなし、中性脂肪を中心として、その周囲に乳化剤であるレシチンが親水基を外方に、疎水基を内方に向け規則正しく並んだ構造をしている。

中性脂肪とリン脂質の量的配分であるが、10%の中性脂肪を乳化するに必要なリン脂質の量は約0.4%でよく、市販の脂肪乳剤に含まれるリン脂質の1/3にすぎず<sup>2,3)</sup>、このことはCarpentierによる脂肪乳剤の超遠心の結果からも裏付けされている<sup>4)</sup>。安全のために添加されている余分のリン脂質はリポソームあるいはリン脂質の液晶2重層を

形成し(以下ミセル粒子と総称する)、脂肪乳剤粒子の衝突を防ぎ、乳剤の安定化に欠くことのできない存在となっている<sup>5)</sup>。

一方、静注された人工脂肪粒子の代謝過程は内因性脂肪粒子であるカイロミクロンと類似しているといわれているが<sup>6,7)</sup>、その最も大きな違いは人工脂肪粒子がアポ蛋白を有しないことである<sup>8)</sup>。そのため人工脂肪粒子は血管内に入ると、第1段階として、HDLよりアポCII, CIII, Eを受け取り、その後、第2段階として、リポ蛋白リパーゼにより分解を受け、アポCII, CIIIを放出、レムナントとなって肝細胞のアポEレセプターと結合、肝細胞内に取り込まれ、代謝されると考えられてきた<sup>4,9)</sup>。

しかし、ヒトの循環血液中にはこのように脂質を可溶化するアポ蛋白が存在し、投与された脂肪粒子に速やかに結合するため<sup>10)</sup>。乳剤の安定化のためにミセル粒子を形成していたリン脂質はもはや不必要となり、別の粒子を形成して、乳剤そのものとは別の経路で代謝される可能性がある。したがって、脂肪乳剤の体内動態は、主成分である中性脂肪を含んだ乳剤粒子と乳化剤であるリン脂質のみからなるミセル粒子に分けて考える必要がある。

中性脂肪の大部分は肝などの代謝臓器で比較的速やかに代謝され生体のエネルギー源として利用されることはすでに明らかにされている<sup>11-14)</sup>。今

回の結果からも、中性脂肪は投与直後より肝に取り込まれ120分後にはその放射活性の減少からすでに代謝されたといえる。

しかし、投与された人工脂肪粒子の乳化剤であるリン脂質の代謝に関する報告はこれまでほとんどない<sup>4,15)</sup>。ここで、今回の血漿の中性脂肪とレシチンの濃度の変化の結果から考察してみると、まず血漿中レシチン濃度は投与直後より中性脂肪の2.3倍存在したことは、レシチンが乳剤粒子を形成するものとミセル粒子を形成するものの2つの異なった形で存在することを意味している。そのうち乳剤粒子は速やかに主として肝などの代謝臓器に取り込まれたが、ミセル粒子は長く血中に残存した。しかし、ラットの全血漿量を4 ml/100 g (体重)として、5分後から60分までの血漿からの消失量は、中性脂肪とレシチンでほとんど同量である。すなわち、この間にレシチンは乳剤粒子として主として肝に取り込まれ、ミセル粒子としてはまだ血中に残存していることを意味する。

われわれはすでに人工脂肪粒子が血中でたとえ部分的に水解されても、リン脂質の外膜を有したまま肝実質内に取り込まれ、そこで初めて分解されることを電子顕微鏡的に<sup>11,16)</sup>、あるいは乳化剤を変えることにより<sup>17)</sup>証明している。これは今回の乳剤粒子の動態とよく一致する。

最近、乳化剤であるリン脂質の割合を今までの半分に抑えた20%脂肪乳剤が開発され、臨床使用されている<sup>18,19)</sup>。20%脂肪乳剤の特徴は、中性脂肪の含量から考えると、10%脂肪乳剤に比べ約半分の水分量で等量のカロリーを補給できることにあるが、臨床使用したときの最も大きな相違点は10%脂肪乳剤のようにリン脂質とコレステロールの上昇を伴う高脂血症が生じないことである<sup>20,21)</sup>。このことは今回の結果からも容易に説明がつく。すなわち、20%脂肪乳剤では、乳剤粒子を形成するリン脂質の方がミセル粒子を形成するものよりも多くなり、脂肪乳剤に含まれるリン脂質は乳剤粒子として主として肝組織に取り込まれたためである。

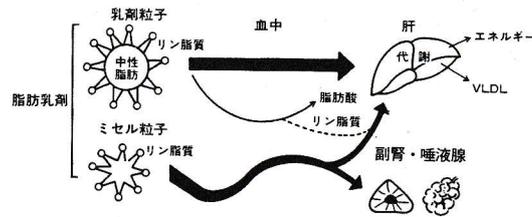


図8 人工脂肪粒子の体内動態

ミセル粒子を形成したリン脂質の体内動態に関しては、今回の検討からリン脂質はゆっくりと肝に取り込まれていくことが判明した。しかし、肺にはあまり取り込まれず、直接肺の表面活性物質とはならないのかもしれない。また、副腎および唾液腺に高濃度に分布したことから、これら組織でレシチンが何らかの形で利用されている可能性が新たにわかった。

現在わが国で臨床使用されている静注用脂肪乳剤には数々の問題点がある<sup>18,22)</sup>。その一つとして、脂肪乳剤の乳化剤であるリン脂質がかなり多い目に含まれており、これが高脂血症の原因となったり<sup>23)</sup>、肝組織に蓄積したりする<sup>24)</sup>ことがあげられる。今回の検討から、これはミセル粒子を形成したリン脂質が長く血中に残り、ゆっくりと肝に取り込まれるためであるといえる。

しかしながら、乳化剤の量を少なくすると、乳剤の安定性が低下してしまうことは周知の事実であり<sup>5)</sup>、その証拠として、20%脂肪乳剤は10%製剤よりも粒子径がやや大きい<sup>25)</sup>。したがって、脂肪乳剤の作成の際により少量の乳化剤で乳化できる新しい乳化法や代謝されやすい乳化剤の開発が強く望まれる<sup>26)</sup>。

われわれは従来のレシチンに代えて陰イオン性界面活性剤である phosphatidyl glycerol (P-GL) を乳化剤として用いて、その安定性と代謝について検討してきた<sup>27,28)</sup>。その結果、現在市販されている脂肪乳剤よりも安定性は良好で、しかも乳化剤の血中消失速度は速く、肝で速やかに代謝されることを明らかにした。

## 結語

人工脂肪粒子の体内動態に関し、主成分である中性脂肪と乳化剤であるリン脂質に分けて、その動きを個別に測定し、以下の結論を得た(図8)。

1) 脂肪乳剤には乳剤粒子とリン脂質のみからなるミセル粒子が存在すること、

2) そのうち乳剤粒子は投与60分後までに速やかに血中から消失し、主として肝に取り込まれ、そこで代謝されるのに対し、リン脂質からなるミセル粒子は肝には徐々にしか取り込まれず、血中に長く残留することのほか、

3) 脂肪乳剤として投与したリン脂質は副腎と唾液腺に高濃度に分布することが初めてわかった。

すなわち、脂肪乳剤を投与すると、ミセル粒子を形成したリン脂質が別の粒子を形成し、乳剤粒子そのものとは異なった経路で代謝されることを明らかにした。

稿を終えるに当たり、ご協力いただいた大塚製薬工場鳴門研究所代謝分析研究室の各位に心より御礼申し上げます。

## 参考文献

- 馬庭芳朗：肝における脂肪乳剤の代謝に関する形態学的研究を可能とする新しい固定法と肝オートラジオグラフィの確立。和歌山医学 42 : 791-804, 1991.
- Schulman JH, Friend JA : Light scattering investigation of the structure of transparent oil-water disperse systems. II. J. colloid Sci 4 : 497-509, 1949.
- 辻 薦：2・5 乳化剤と安定剤。「乳化・可溶性の技術」第7版，工学図書，東京，1989，p 77-92.
- Carpentier YA : Intravascular metabolism of fat emulsions : The Arvid Wretling Lecture, ESPEN 1988, Clin Nutr 8 : 115-125, 1989.
- 春沢文則：エマルションの生成と安定性。油化学 35 : 50-54, 1986.
- Kinsell LW, Michaels GD, Imaichi K : Studies with fat emulsions. Metabolism of intravenously administered C<sup>14</sup>-tripalmitin. Am J Clin Nutr 16 : 97-100, 1965.
- Havel RJ, Kane JP, Kashyap ML : Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and high density lipoproteins during alimentary lipemia in man. J Clin Invest 52 : 32-38, 1973.
- 谷村 弘，小林展章，馬庭芳朗ほか：静脈栄養における脂肪投与とその病態生理。外科 48 : 570-577, 1986.
- 入山圭二：アポリポ蛋白質代謝。JJPEN 10 : 109-112, 1988.
- Iriyama K, Nishiwaki H, Terashima H et al : Apoprotein C-II modifications associated with an infusion of artificial lipid particles. J Parenter Enteral Nutr 12 : 60-62, 1988.
- Hallberg D : Elimination of exogenous lipids from the blood stream. Acta Physiol Scand Suppl 254 : 2-22, 1965.
- Carlson LA, Rossner S : A methodological study of an intravenous fat tolerance with Intralipid emulsion. Scand J Clin Lab Invest 29 : 271-280, 1972.
- 谷村 弘，日笠頼則：静注用脂肪乳剤 Venolipid の臨床第1相試験。現代の診療 22 : 1611-1614, 1980.
- 大柳治正：脂肪乳剤（イントラリポス®）の代謝と臨床応用について。イントラリポス® 10%医学文献集第1版，医学書房，大阪，p.29-47, 1981.
- Untracht SH : Intravascular metabolism of an artificial transporter of triacylglycerols, Alterations of serum lipoproteins resulting from total parenteral nutrition with Intralipid. Biochim Biophys Acta 711 : 176-192, 1982.
- 馬庭芳朗，谷村 弘，杉本恵洋ほか：中鎖脂肪酸トリグリセリド乳剤静注時の肝における脂質代謝に関する電子顕微鏡学的研究。外科と代謝・栄養 25 : 375-382, 1991.
- 瀧藤克也，谷村 弘，馬庭芳朗ほか：新しいリン脂質にて乳化した脂肪乳剤の血中消失速度と肝組織の電子顕微鏡的観察。日本静脈経腸栄養学会誌 6 : 94-97, 1991.
- 谷村 弘，東 芳典：最近の脂肪乳剤研究の動向。JJPEN 10 : 103-108, 1988.
- 谷村 弘，馬庭芳朗：完全静脈栄養（総論）。外科治療 62 : 97-100, 1990.
- Meguid MM, Akahoshi MP, Debonis D et al : Use of 20% fat emulsion in total parenteral nutrition. Crit Care Med 14 : 29-31, 1986.
- 真田正雄，田代亜彦，真島吉也ほか：脂肪乳剤 Intralipid 併用高カロリー輸液における脂質代謝。外科と代謝・栄養 23 : 91-102, 1989.
- 谷村 弘：老年者における脂肪輸液の問題点。Geriat

- Med 23 : 217-224, 1985.
- 23) 田代垂彦, 真島吉也, 山森秀夫ほか: 脂肪乳剤 Intralipid 併用高カロリー輸液におけるリポ蛋白代謝 (第2報). 外科と代謝・栄養 19 : 330-335, 1985.
- 24) Degott C, Messing B, Moreau D et al : Liver phospholipidosis induced by parenteral nutrition : Histologic, histochemical, and ultrastructural investigations. Gastroenterology 95 : 183-191, 1988.
- 25) 谷村 弘, 三木毅一郎, 日笠頼則: 脂肪乳剤の形態学的観察. JJPEN 2 : 579-584, 1980.
- 26) 谷村 弘, 馬庭芳朗: 脂肪一素材の導入と展開. 癌・免疫・栄養 3 : 18-23, 1989.
- 27) 瀧藤克也, 谷村 弘, 馬庭芳朗ほか: 新しいリン脂質にて乳化した脂肪乳剤の体内動態. 外科と代謝・栄養 25 : 314, 1991.
- 28) 瀧藤克也: 新しい乳化剤による脂肪乳剤の作成とその代謝に関する生化学的・形態学的研究. 和歌山医学 42 : 805-822, 1991.

## Kinetics of Each Component after Intravenous Administration of Labelled Fat Emulsions

†Katsunari TAKIFUJI, Hiroshi TANIMURA, Yoshio MANIWA, Akito HUKU, Motoki YAMAMOTO and Masaki SAHARA

Commercially available fat emulsions for parenteral nutrition consist of long-chain triglyceride lipid particles emulsified with lecithin. Although it is recognized that these triglycerides are well metabolized, mostly in the liver, the metabolism of the lecithin added as an emulsifier has never been clarified.

We separately labelled the triglycerides and lecithin in fat emulsions to examine their individual kinetics after intravenous administration.

1) Immediately after administration, two types of lipid particles, one an emulsion particle and the other a micelle particle structured only with phospholipids, were observed.

2) The emulsion particles disappeared from the bloodstream rapidly and were taken up mainly by the liver and metabolized.

3) The micelle particles remained in the bloodstream longer and were taken up gradually by the liver.

4) The lecithin was concentrated highly in the adrenal and salivary glands.

Jap. J. Surg. Metab. Nutr. (JJSMN) 26 : 131-137, 1992.

fat emulsion, autoradiogram, lecithin, triglyceride

---

†Gastroenterological Surgery, Wakayama Medical College : 27, Shichibancho, Wakayama, 640, Japan