

# 同窩幼犬中樞神經各部分脂質之進一步探討

## Advanced Lipid Fractionation of the Central Nervous System of Litter Mate Dogs

顏元仲\*

Yuang-Chung Yen

### 前 言

近數年來對正常與肥胖動物各組織所含脂質之定性及定量分析，曾先後予以測定(1-6)。年前著者對成犬中樞神經脂質分析之研究時，發現磷脂、膽固醇及中性脂肪之含量與中樞神經各部分位置有密切關係(7)。由於初生動物的神經功能與成年動物的差異很大，因此，可以推想年齡與發育情況對中樞神經內脂質的分佈及含量的多寡，也是一個有趣而重要的問題。本實驗之目的在對幼犬中樞神經各部所含之脂質作進一步探討。

### 材料與方法

本實驗之研究對象，為土產出生甫一個半月同窩幼犬。共六隻；四雄、二雌，體重分別在0.9公斤至1.1公斤間。幼犬出生後，由母犬飼以乳汁，直至實驗前一日，始將母犬與幼犬分開，停止哺乳，但籠中仍供應充足水份。實驗開始時，以戊巴比土酸鈉按每公斤體重卅毫克劑量，溶於生理食鹽水中行腹腔注射。俟動物麻醉後，先分離出頸動脈與頸靜脈，並分別用PE管作動、靜脈插管。然後以0.9% NaCl 溶液藉Model TM<sub>10</sub> Sigma motor 之力量灌注，由頸動脈注入，經循環全身後，自頸靜脈排出。沖洗體內各組織器官內所含之血液，待肝臟顏色呈灰白色時，沖洗工作即可停止。以開顱器切除頭蓋骨，以骨剪剪去脊柱之椎弓，並分別採取所需標本——大腦皮質、腦幹、小腦及脊髓。標本取出後，先以濾紙吸乾表面之水分。立刻分別盛於有蓋之培養皿中，蓄存於冰箱內備用。所取標本除一部份作含水量之測定外，其餘部份選

取定量浸入3:1氯仿與甲醇混合液內抽取組織內所含之脂質，以供脂質之定性與定量之分析。此項分析，按實驗目的可分為二大類，一類係用分光儀比色法，測定各部神經組織中所含磷脂、總膽固醇及中性脂肪等之含量。另一類係用色層分析法測定各脂質中所含之脂肪酸的種類及分量。

#### 一、水分與脂質之測定

神經組織各部分之含水量，以乾燥法測定之。磷脂、總膽固醇、中性脂肪及總脂量分別用Fiske et al.(8), Sperry et al.(9), van Handle et al.(10)及Folch et al.(11)諸氏之方法測定之。

#### 二、脂肪酸之測定

神經組織中各種脂質所含脂肪酸之定性與定量分析，採用二種不同步驟，其一為先按Metcalf與Schmintz二氏方法(12)，重新處理，然後以氣體色層分析儀(Biochemical Gas chromatograph F & M Model 400)直接測定各脂肪酸在該組織中所佔之百分比。另一步驟先按Schierf與Wood二氏方法(13)及Atramson與Blecher二氏法(14)以薄膜色層分離法(Thin-layer chromatograph)將各部神經組織中脂質所含磷脂、總膽固醇及中性脂肪先行分離，然後將色層薄膜之各段分別刮取，溶於1:1氯仿及甲醇混合溶劑內，再以氣體色層分析儀測定各脂肪酸在上述三種脂質中所佔之百分比。

由於幼犬中樞神經組織之分量不多，每隻幼犬之大腦皮質、小腦與腦幹各部分標本尚可單獨供各

\*本系理學士，省立護理專科學校副教授

項分析，但脊髓則須以兩隻幼犬之標本合併為一組（共得三組）後，方夠作上述各項之測定。

## 結 果

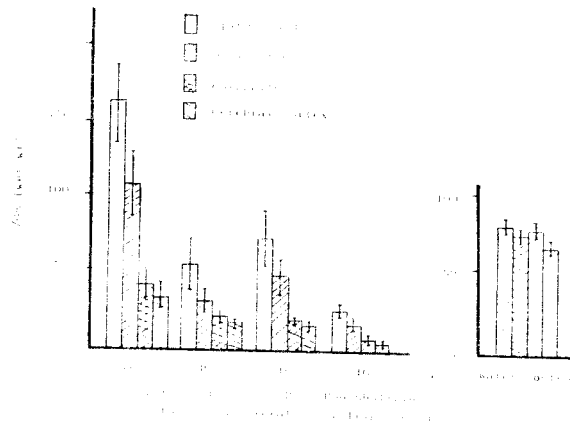
### 一、水分與脂質之含量

表 I 與圖一為幼犬中樞神經各部組織水分與脂質之含量。表中數字顯示幼犬腦組織之含水量較脊髓之含水量高。如大腦皮質之平均含水量為 85.5 %；小腦為 81.5 %；腦幹為 82.6 %，而脊髓僅有 75.4 %。同表中尚顯示幼犬中樞神經組織中大

腦皮質與小腦所含之脂質以磷脂含量最多，總膽固醇次之，中性脂肪最少；腦幹與脊髓內則以總膽固醇最多，磷脂次之，中性脂肪最少。總脂質在大腦皮質、小腦、腦幹與脊髓亦有顯著之差別。例如本實驗中所得幼犬大腦皮質之總脂質為 36.8 mg / gm，小腦為 38.4 mg / gm，腦幹為 104.2 mg / gm，脊髓則為 162.3 mg / gm，脊髓內之總脂質為大腦皮質之 4.5 倍（以上單位以濕組織之重量為標準）。

表 I 同窩幼犬中樞神經系統各部分脂質及含水量分佈，mg / gm 濕組織（平均價±標準差）

	Phospholipid	Total cholesterol	Triglyceride	Total lipid	Water content
Cerebral cortex	13.6 ± 0.66	13.1 ± 1.13	4.5 ± 0.70	36.8 ± 2.43	85.46 ± 0.56
Cerebellum	18.3 ± 1.59	13.9 ± 0.35	1.8 ± 0.67	38.4 ± 1.59	81.52 ± 0.74
Brain stem	39.8 ± 3.51	43.3 ± 3.55	16.3 ± 3.86	104.2 ± 5.21	82.60 ± 0.86
Spinal cord	65.8 ± 4.02	71.6 ± 1.00	26.9 ± 2.45	162.3 ± 7.46	75.40 ± 0.73



圖一 同窩幼犬中樞神經系統各部脂質量與含水量

### 二、各脂肪酸所佔之百分比

如以氣體色層分析儀，分析幼犬中樞神經組織中各種脂肪酸所佔百分比，可知各部組織皆以軟脂酸 (Palmitate)、硬脂酸 (Stearate) 及油酸 (Oleate) 三者之含量較多，幾佔全部脂肪酸之百分之九十以上。其他如肉豆蔻酸 (Myristate)，不飽和花生油酸 (Arachidonate) 及

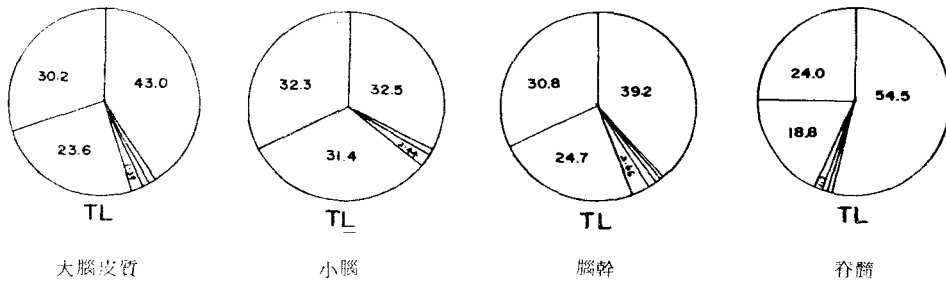
亞麻仁酸 (Linoleate) 等脂肪酸之含量則較少，由於組織部位不同，各脂肪酸之含量亦有差異，如腦組織中軟脂酸及硬脂酸較脊髓之含量高，而脊髓中油酸之含量較腦組織高。結果如表 II 及圖二。

幼犬中樞神經各部組織如先以薄膜色層分析法分離出組織中各種脂質，如磷脂、總膽固醇與中性脂肪，然後再用氣體色層分析儀測定各脂質中不同脂肪酸之含量。可見僅含量較多之脂肪酸才能在記

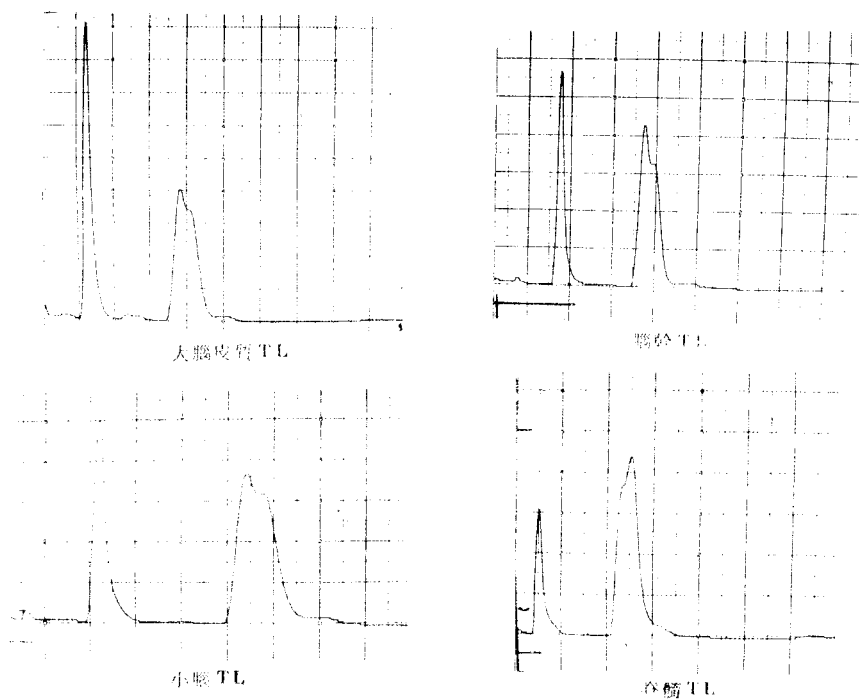
錄紙上有曲線出現。主要者仍為軟脂酸、硬脂酸及油酸。其他含量較少之脂肪酸則不能測出。結果如表Ⅲ及圖三~六。

表Ⅱ 同窩幼犬中樞神經系統各部份總脂質中所含主要脂肪酸之百分比。mg/gm濕組織 (平均值±標準差)

Total lipid	Myristate C <sub>14</sub> :0	Palmitate C <sub>16</sub> :0	Palmitoleate C <sub>16</sub> :1	Stearate C <sub>18</sub> :0	Oleate C <sub>18</sub> :1	Linoleate C <sub>18</sub> :2	Arachidonate C <sub>20</sub> :0
Cerebral cortex	0.41±0.08	43.0±3.2	0.52±0.13	30.2±2.7	23.6±0.8	0.75±0.1	1.39±0.4
Cerebellum	0.47±0.06	32.5±3.0	.....	32.3±1.5	31.4±2.3	0.90±0.3	2.44±1.0
Brain stem	0.31±0.01	39.2±3.1	0.33±0.12	24.7±3.2	30.8±4.0	0.80±0.2	2.66±1.7
Spinal cord	0.18±0.04	18.8±1.7	.....	24.0±4.5	54.5±3.7	1.80±0.2	0.71±0.1



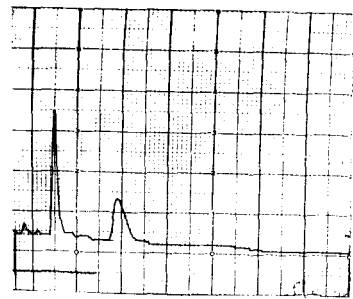
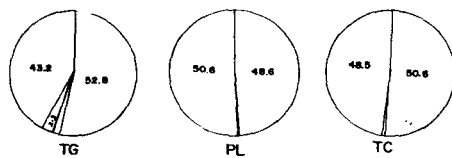
圖二 大腦皮質, 小腦, 腦幹及脊髓內總脂質中各脂肪酸之分佈情形(%)。



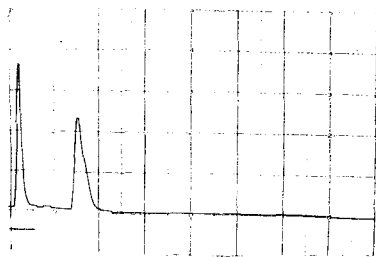
圖三 氣體色層分析記錄縮影。

表Ⅲ 同窩幼犬中樞神經系統各部份所含各脂質中脂肪酸含量百分比。mg / gm 濕組織 (平均值 ± 標準差)

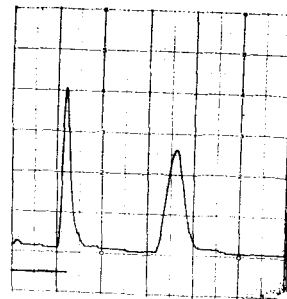
	Myristate C <sub>14</sub> : 0	Palmitate C <sub>16</sub> : 0	Palmitoleate C <sub>16</sub> : 1	Stearate & Oleate C <sub>18</sub> : 0 & C <sub>18</sub> : 1
<b>Cholesterol :</b>				
Cerebral cortex	0.45 ± 0.2	50.6 ± 0.8	0.36 ± 0.2	48.5 ± 0.6
Cerebellum	.....	33.45 ± 2.4	.....	66.5 ± 2.4
Brain stem	1.73 ± 0.5	35.60 ± 2.6	4.45 ± 2.5	58.2 ± 4.2
Spinal cord	2.56 ± 0.4	31.60 ± 0.7	4.80 ± 0.9	61.2 ± 1.6
<b>Phospholipid :</b>				
Cerebral cortex	0.63 ± 0.2	50.57 ± 5.8	0.37 ± 0.1	48.6 ± 5.7
Cerebellum	.....	24.52 ± 2.7	.....	75.5 ± 3.0
Brain stem	.....	38.00 ± 5.1	.....	61.9 ± 5.1
Spinal cord	.....	28.60 ± 4.3	.....	71.4 ± 4.2
<b>Triglyceride :</b>				
Cerebral cortex	1.93 ± 0.4	52.80 ± 2.5	2.10 ± 1.1	43.2 ± 2.5
Cerebellum	.....	15.54 ± 3.1	.....	84.4 ± 3.1
Brain stem	.....	40.85 ± 4.6	.....	58.8 ± 4.2
Spinal cord	.....	25.27 ± 3.9	.....	74.7 ± 3.9



T C 中性脂肪

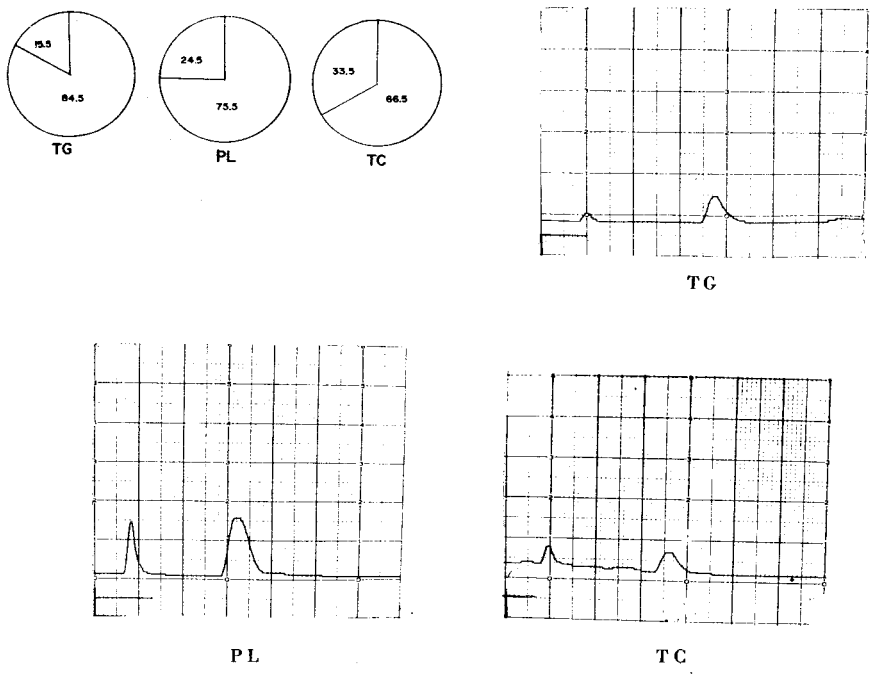


PL 磷脂

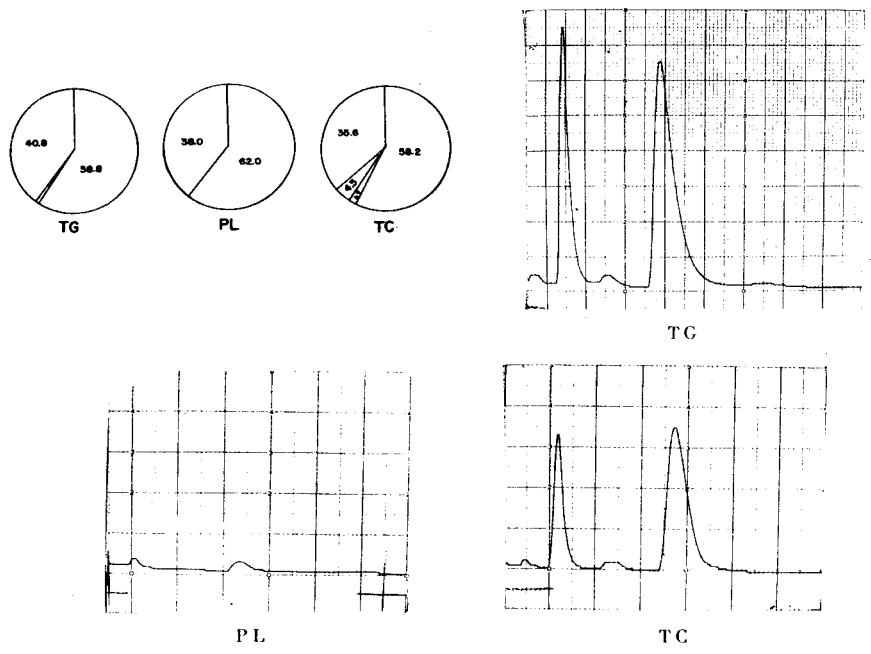


T C 總膽固醇

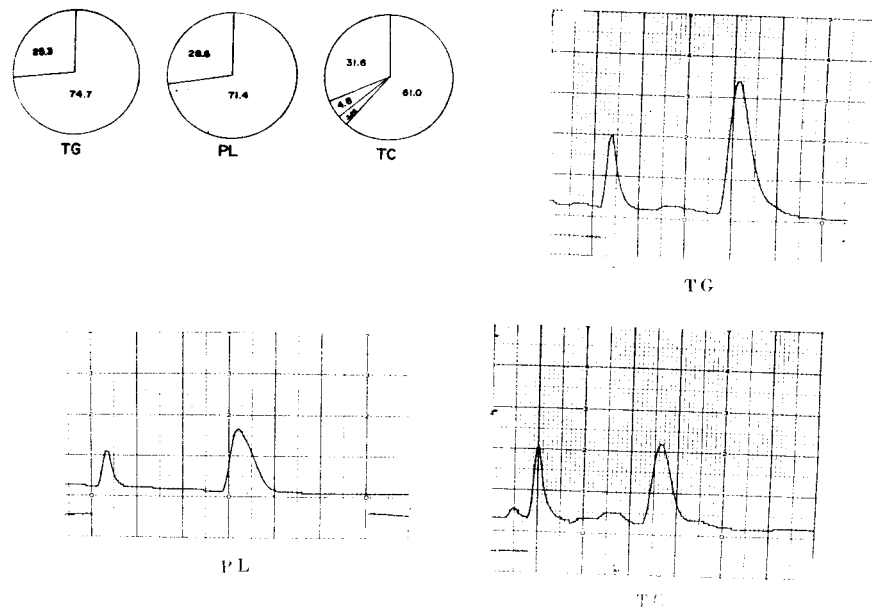
圖三 大腦皮質的中性脂肪、磷脂及總膽固醇內各主要脂肪酸之分布 (%) 及記錄縮影。



圖四 小腦的中性脂肪、磷脂及總膽固醇內各主要脂肪酸之分佈(%)及記錄縮影。



圖五 腦幹的中性脂肪、磷脂及總膽固醇內各主要脂肪酸之分佈(%)及記錄縮影。



圖六 脊髓的中性脂肪、磷脂及總膽固醇內各主要脂肪酸之分佈(%)及記錄之縮影。

## 討 論

如以本實驗結果與著者以前所作成犬中樞神經各部分觀脂質的分佈(7)比較可發現數點特殊之處。如幼犬中樞神經各部之含水量均較成犬者為高。幼犬大腦皮質與小腦內之總脂量皆較成犬少。而幼犬與成犬腦幹與脊髓內之總脂量則無甚差異。這些現象可能與發育過程中神經細胞體與神經纖維之比例多少有關。

以氣體色層分析儀直接分析幼犬中樞神經各組織中脂肪酸之分佈情形，並與觀脂質中硬脂酸及神經組織中含量最多之脂肪酸，如膽甾醇神經組織中以薄膜色層分析法分離出其中之主要脂質，再分別以氣體色層分析儀一一分析其脂質中脂肪酸成分，亦發現有同樣之分佈情形，由此可以證明幼犬神經組織之主要脂肪酸為軟脂酸、硬脂酸及油酸三種，其他脂肪酸所佔成分很少。如作進一步分析，則又發現大腦皮質中軟脂酸所佔百分比最高，硬脂酸次之，油酸最少。但脊髓中這三種脂肪酸所佔之百分比的順序剛好相反。而大腦皮質所含磷脂、總膽固醇及中性脂肪三種重要脂質中軟脂酸所佔之百分比

皆較其他脂肪酸為高，但脊髓中之分佈情形又剛和 大腦皮質相反。這種差別也可能是因為這二部組織中所含神經細胞體和神經纖維比例不同所造成的。

## 摘 要

出生一個半月土產同窩幼犬之 大腦皮質、小腦、腦幹與脊髓各部所含水分，脂質及脂肪酸之成分，分別用(甲)乾燥法、(乙)分光儀比色法、(丙)薄膜色層分析法及(丁)氣體色層分析計四種方法予以測定。幼犬神經組織所含之水分，大腦皮質最高(85.5%)，其次為小腦(82.6%)、小腦(81.5%)及脊髓(75.4%)。其所含之總脂量則以脊髓最高(162.3mg/gm)，其次為小腦(101.2mg/gm)、小腦(39.4mg/gm)及大腦皮質(36.8mg/gm)。幼犬神經組織中之各脂質，腦幹與脊髓以總膽固醇之含量較高，其他部位則以磷脂之含量最高，其次為膽甾醇，中性脂肪最低。幼犬幼犬神經組織之脂肪酸，皆為軟脂酸、硬脂酸及油酸三種，其佔總含量百分之九十五以上。大腦皮質中三種主要脂質所含之脂肪酸以軟脂酸所佔百分比最高，硬脂酸次之，油酸最低。脊髓中這三種脂

肪酸所佔百分比的順序恰好和大腦皮質相反。這些差異可能皆由於幼犬中樞神經各部組織中所含神經細胞體與神經纖維之比例不同所造成。

學系，慨然賜借用各項所需之設備及儀器，王國武醫師、林明芳、蔡長添、顏茂雄等教官技術上的協助，方能順利完成，謹此致謝。

## 誌 謝

本實驗承蒙國防醫學院生物化學系及生物物理

## Reference

1. Liu, A. C., K. Liu, J. Y. Mu and W. P. Pi : Lipid fractionation in obese "Tofan" ducks. Chinese J. Physiol., 19 : 289-301, 1965.
2. Liu, A. C., K. Liu and J. Y. Mu : Lipid fractionation in hypothalamic obese rats. Chinese J. Physiol., 19 : 371-379, 1966.
3. Liu, A. C., K. Liu and Y. C. Wang : Lipid fractionation in obese rats on a high caloric diet. Chinese J. Physiol., 19 : 391-397, 1966.
4. Liu, K., G. W. Wang and H. K. Li : Effect of choline addition in diet on hypothalamic obese rats. Chinese J. Physiol., 20 : 13-19, 1967.
5. Liu, K., A. C. Liu, G. W. Wang and H. K. Li : On the glycogen and total lipid of the rat liver. Chinese J. Physiol., 20 : 83-90, 1967.
6. Liu, A. C., K. Liu, H. K. Li and G. W. Wang : Plasma lipid and related changes in dieting dogs. Chinese J. Physiol., 20 : 91-100, 1967.
7. Yen, Y. C., G. W. Wang, and A. C. Liu : Distribution of lipid fractions and levels of central nervous system. Chinese J. Physiol., 20 : 145-150, 1968.
8. Fiske, C. H. and Y. Subbarow : The calorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., 66 : 375-400, 1925.
9. Sperry, W. M. and M. Weh : A revision of the Schoenheimer Sperry method for cholesterol determination. J. Biol. Chem., 187 : 97-106, 1950.
10. van Handel, E. and D. B. Zilveromit : Micromethod for the determination of serum triglyceride. J. Lab. Clin. Med., 50 : 152-157, 1957.
11. Folch, J., I. A. McLees, J. A. Meath and F. N. Lebaron : Preparation of lipid extract from brain tissue. J. Biol. Chem., 191 : 833-841, 1951.
12. Metcalfe, L. D. and A. A. Schmitz : The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Anal. Chem., 33 : 363-364, 1961.
13. Schlierf G. and P. Wood : Quantitative determination of plasma free fatty acids and triglyceride by thin-layer chromatograph. J. Lipid Res., 6 : 317-319, 1965.
14. Alramson, D. and M. Blecher : Quantitative two-dimensional thin-layer chromatograph of naturally occurring phospholipids. J. Lipid Res., 5 : 628-631, 1964.
15. Agrawal H. C. Davis and W. A. Himwich : Water content of dog brain parts in relation to maturation of the brain. Am. J. Physiol., 215 : 846-848, 1968.

# Advanced Lipid Fractionation of the Central Nervous System of Litter Mate Dogs

by

Yuang-Chung Yen

Contents of water, total lipids, phospholipid, total cholesterol and triglyceride in cerebral cortex, cerebellum, brain stem and spinal cord of 1½-month old puppy have been determined. Fractions of major fatty acids in each portion of CNS and in three different lipids of nervous tissue have also analyzed qualitatively and quantitatively with gas chromatograph and thin-layer chromatograph. Water content was high in cerebral cortex, low in spinal cord, with cerebellum and brain stem in between. Contents of total lipids had a reverse order, i. e. high in spinal cord and low in cerebral cortex. In most portion of neural axis, phospholipid had the highest percentage, triglyceride the lowest with total cholesterol in between. However, total cholesterol constituted the highest percentage in brain stem and spinal cord. As the nervous tissue and the three different lipid were further fractionated, it was found that palmitate, stearate and oleate were the three major fatty acids. They constituted more than 90% of total fatty acids. In cerebral cortex, palmitate had higher percentage than the other two fatty acids, while in spinal cord, oleate and stearate had higher percentages. All these discrepancies were probably result from the different proportion of cell body and nerve fiber in each portion of the CNS.