

## Orotic acid 유발 지방간 rat와 mouse의 중성지질 대사

조영수<sup>†</sup> · 車載英\*

동아대학교 생명자원과학대학 농화학과  
\*日本佐賀大學應用生物科學科

### Effect of Dietary Orotic Acid on Triglyceride Metabolism in Rats and Mice

Young-Su Cho<sup>†</sup> and Jae-Young Cha\*

Department of Agricultural Chemistry, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

\*Department of Applied Biological Science, Saga University, Saga 840, Japan

#### Abstract

Effects of 1% dietary orotic acid on triglyceride metabolism were examined in SD-rats and Kud : ddY mice. When rats were fed semisynthetic diet containing 1% orotic acid and n-6 polyunsaturated fatty acid (linoleic acid), the hepatic triglyceride content was increased significantly by about 3-fold and the serum triglyceride content was decreased compared with orotic acid-free diet. In contrast to rats which respond to orotic acid consumption with increases in hepatic triglyceride content, mice did not so respond.

The rats-limiting step in triglyceride synthesis is catalyzed by the enzyme phosphatic acid phosphohydrolase (EC 3.1.1.3.4) which is present in the liver cytosol and microsomes of rats fed orotic acid diet. This finding suggests that the activity of this enzyme may play a role in the fatty liver formation in rats.

*Key words : orotic acid, metabolism, triglyceride, phosphatic acid phosphohydrolase*

#### 서 론

脂肪肝은 비만, 고지혈증, 당 및 인슐린 대사이상, 다량의 알코올 섭취 등의 원인에 의하여 肝臟에 주로 triglyceride가 異常적으로 축적되는 질환이다. 지금까지 脂肪肝의 發症 mechanism과 그 예방에 관한 연구는 행해지고 있지만<sup>1,2,3)</sup> 아직 충분히 밝혀져 있지 않은 상태이다.

Orotic acid는 carbamyl phosphate와 aspartic acid 등의 페환 반응에 의하여 생성된 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간 생성물로서<sup>2)</sup> 과잉섭취에 의하여 脂肪肝을 유발시킨다는 것이 알려져 있다<sup>2,4,5)</sup>. Orotic acid에 의한 脂肪肝 발증 기작으로서, golgi체에서의 apoprotein의 glycosylation 저해와 그것에 따른 lipoprotein, 주로 very low density lipoprotein (VLDL) 방출저해가 시사되어지고 있으며<sup>6,7,8)</sup>,

<sup>†</sup> Corresponding author

그 이외의 원인에 대한 검토는 거의 없는 실정이다<sup>9)</sup>. 이에 저자들은 orotic acid 유발 脂肪肝 모델을 사용하여 식이에 의한 지방간 제어의 기능성을 검토하기 위하여 식이 지방산, polyunsaturated fatty acid/monounsaturated fatty acid/saturated fatty acid (P/M/S)의 비가 1 : 1 : 1의 식이 조건하에서 polyunsaturated fatty acid의 전부를 n-6계 linoleic acid로 대체하여, orotic acid에 의하여 유발되어진 脂肪肝의 특징을 알기 위하여 肝臟과 혈청지질중의 triglyceride를 분석하고, 간장 triglyceride 합성에 관여하는 phosphatic acid phosphohydrolase (EC 3.1.3.4) 활성을 rat와 mouse를 사용, 측정하여 증성지질 합성과정에 관여하는 한 단계를 검토한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 식이의 조제

항산화제를 첨가하지 않은 palm유, safflower oil은 linoleic 油脂(株)(名古屋)로부터 제공받아서 사용하였으며, 기타 시약은 전부 특급품을 사용하였다. 본 실험에 사용한 기본 식이 조성은 Table 1에 나타내었다. 카제인을 단백질원으로 하여 20%, choline bitartrate 0.2%, corn starch 15%, mineral mixtures (AIN-76)<sup>10)</sup> 4.0%, vitamin mixtures (AIN-76)<sup>10)</sup> 1%, 유지 10%, choline chloride 0.125%, DL-methionine 0.3% 및 sucrose 43.5%로서 대조식이로 하였다. 시험식이로서는 대조식에 orotic acid를 100g당 1g포함되도록 조제한 것을 사용하였다. 이러한 시험유지의 지방산 조성은 Table 2에 표시하였다. 본 실험에

Table 1. Composition of basal diet(%)

Ingredients	orotic acid	Control
Casein	20.0	20.0
DL-methionine	0.3	0.3
Vitamin mixture	1.0	1.0
Mineral mixture	4.0	4.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Cellulose	5.0	5.0
Fat	10.0	10.0
$\alpha$ -corn starch	15.0	15.0
Orotic acid	1.0	—
Sucrose	44.0	45.0

Table 2. Fatty acid composition of dietary fats

	Orotic acid	Basal diet
	(%)	
14 : 0	0.60	0.60
16 : 0	28.14	28.14
18 : 0	2.66	2.66
18 : 1	34.60	34.60
18 : 2	33.84	33.84
18 : 3	0.17	0.17
SFA*	31.40	31.40
MFA**	34.60	34.60
PUFA***	34.00	34.00

\*SFA : Saturated fatty acid

\*\*MFA : Monounsaturated fatty acid

\*\*\*PUFA : Polyunsaturated fatty acid

서는 식이 지방산은 polyunsaturated fatty acid/monounsaturated fatty acid/saturated fatty acid의 비가 1 : 1 : 1의 식이 조건하에서 polyunsaturated fatty acid전부를 n-6계 linoleic acid로 하였다.

### 실험동물 및 사육조건

실험동물로서는 성장기의 SD계 rat수컷(Kyuto K.K.) 및 Kud : ddY mouse (Kyuto K.K.)를 구입하여 사용하였다. rat는 스텐레스제 개별케이지에 1마리씩 넣어 4마리씩 2군, mouse는 5마리씩 케이지에 넣어 2군으로 나누어서 온도 23±1°C, 습도 50±5%로 설정하여 명암주기 12시간으로 명암(明 : 07 : 00 - 19 : 00)이 자동 설정된 사육실에서 사육하였다. 본 실험에 들어가기 전에 10일간 분말시판식이(chow diet, Japan clea CE-2)로 예비 사육후 실험식으로 식이 및 물은 자유 섭취시켰다.

### 분석시료의 조제 및 분석방법

10일간 조제 시료로 사육후 2군의 rat는 에텔 마취 하에서 복부 대동맥으로부터, mouse는 심장으로부터 체혈에 의하여 脫血死 시켜 혈액 및 肝臟을 얻어 지질 분석에 사용하였다. 혈액은 약 30분간 정치후, 3,000rpm에서 15분간 원심분리에 의하여 혈청을 분리시켜 사용하였다.

### 肝臟 총지질 추출

肝臟總脂質은 Folch 등의 방법<sup>11)</sup>으로 추출하였다. 즉 肝臟 1g을 15ml의 chloroform과 7.5ml의 methanol과 함께

homogenization 시킨 후, 37°C에서 30분간 가운 추출하였다. 그 후 chloroform : methanol 혼합액(2 : 1 v/v)으로 25ml로 하여 여과하고, 여액에 4.5ml의 증류수를 가하여 혼합시킨 후, 3,000rpm에서 15분간 원심 분리하여 chloroform층을 회수하였다. 회수한 chloroform층을 질소가스하에서 농축 응고하여 5ml의 석유에틸로 다시 용해시켰다.

**간臟 triglyceride量 정량**

Triglyceride量은 Fletcher의 방법<sup>12)</sup>에 준하여 정량 하였다. 지질 추출액의 일부를 질소가스하에서 건조 시킨 후 10 ml의 isopropanol : 증류수(9 : 1 v/v) 및 0.2g의 silicagel을 첨가후 잘 혼합하여 3,000rpm에서 5분간 원심 분리시켜, 상정액 2ml에 1M의 KOH 0.6ml를 가하여 60~70°C의 water bath에서 15분간 가운 시킨 후, 3mM의 m-과요오드산 나트륨 1m, 아세틸 아세톤액 0.5ml를 가하여 충분히 혼화시켜, 50°C의 water bath에서 30분간 발색시킨 후 방냉하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

**혈청 triglyceride量 정량**

혈청 triglyceride 농도는 triglyceride E-test wako (Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용 GPO- $\rho$ -chlorophenol 발색법에 의하여 측정하였다. 즉 혈청 0.02ml를 정확하게 시험관에 취하고, 발색시약 3.0ml를 가하여 잘 혼합한 후 37°C에서 10분간 가운 시킨후 blank를 대조로서 검체의 흡광도 및 standard는 표준액(trioleic 300mg/dl) 0.02ml에 발색시약 3.0ml를 가한 것이다. 이 측정은 효소에 의해 생성된 glycerol-3-phosphate에 glycerol-3-phosphate oxidase를 작용시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 발생시켜 peroxidase,  $\rho$ -chlorophenol, 4-amino antipyrin의 작용에 의하여 발색시킨 것이다.

**Phosphatic acid phosphohydrolase (PAP) 활성측정**

Phosphatic acid phosphohydrolase (EC 3.1.3.4) 활성은 walton 등의 방법<sup>13)</sup>에 의하여 측정하였다. 즉 0.05M Tris-HCl (pH 7.0), 1mM phosphatic acid, 1mM phosphatidyl choline을 포함하고 있는 반응액(지질) 0.1ml에 0.1ml의 효소액(50~100 $\mu$ g 단백질)을 가하여 반응을 시켰다. 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 0.13% SDS, 0.375 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 함유한 용액 0.4ml로서 정지시킨 후, 1.25% ascorbic acid, 0.32% ammonium molybdate 각각 0.2 ml의 순으로 45°C에서 20분간 발색시킨 후 820nm에서 흡광도를 측정하였다. mouse의 PAP활성은 Mg<sup>++</sup> 첨가 및 무첨가의 조건에서 측정하였다. 결과는 평균 $\pm$ 표준오차 (mean $\pm$ SE)로 표시하였다. 각 군의 유의차의 검토는 Duncan의<sup>14)</sup> multiple range test로 행하였다.

**결과 및 고찰**

**체중변화 및 간장 중량에 미치는 영향**

실험기간 중 체중증가량은 Table 3에 나타난 것과 같이 rat와 mouse에 orotic acid첨가에 의하여 대조군에 비하여 낮은 경향을 나타내었다. 간臟重量 및 체중 100g당 간장중량은 orotic acid 첨가에 의하여 rat에서는 현저하게 증가했으나, mouse에서는 명확한 차는 인정되지 않았다. 이것은 실험동물의 종류에 따라서 동물간의 차이가 orotic acid 첨가에 따른 대사의 차이에 의한 것으로 추측되어진다.

**혈청 및 간臟의 지질농도에 미치는 영향**

Rat의 간臟 triglyceride 농도는 orotic acid무첨가 식이군과 비교하여 orotic acid첨가군에서 약 3배 증가하고, 혈청 triglyceride는 82% 저하를 나타내었다. 한편, mouse

Table 3. Effect of dietary orotic acid on weight gain, liver weight and hepatic and serum triglyceride content in rats and mice<sup>1</sup>

Parameter	Rats		Mice	
	control	orotic acid	control	orotic acid
Weight gain(g/day)	9.12 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	7.94 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	0.51 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.35 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
Liver wt(g)	15.13 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	16.44 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	2.26 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.38 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
Liver wt, % body wt	5.99 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	6.89 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	6.93 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	7.66 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
Liver TG(mg/g liver)	44.08 $\pm$ 4.38 <sup>a</sup>	122.78 $\pm$ 9.63 <sup>b</sup>	36.82 $\pm$ 4.18 <sup>a</sup>	18.75 $\pm$ 1.28 <sup>b</sup>
Serum TG(mg/100mL)	217.41 $\pm$ 30.82 <sup>a</sup>	39.29 $\pm$ 14.08 <sup>b</sup>	134.08 $\pm$ 10.23 <sup>a</sup>	166.09 $\pm$ 26.91 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Rats and mice were fed the semipurified diet containing with or without 1% orotic acid for 10 days. Each value represents mean $\pm$ SE of 4 rats and 5 mice. Values with different letters are significantly different at p<0.05.

에서는 orotic acid첨가식이군에서 肝臟 triglyceride농도가 orotic acid무첨가 군에 비해 2배 감소하고, 혈청 triglyceride농도에는 유의차가 인정되지 않았다. 이는 실험 동물종에 의하여 그 차이가 있다는 것이 인정되었다. 여기서 orotic acid유발 지방간의 발증에 실험 동물종의 특성에 대하여 검토하기 위하여 식이 지방산의 P/M/S비가 1 : 1 : 1의 식이 조건에서 polyunsaturated fatty acid의 전부를 n-6계 linoleic acid로 치환한 경우, 1% orotic acid첨가에 의하여 rat 肝臟 triglyceride농도는 약 3배 증가되어 지방간의 발증이 입증되었다. (Table 3) orotic acid투여에 의하여 rat 肝臟 triglyceride농도의 증가에 의한 지방간은 3일째까지는 발증이 나타나지 않았으나 7일째에는 발증이 확인되었다<sup>15)</sup>. 식이성 orotic acid에 의한 지질대사의 영향에 대해서는 실험동물로서 주로 rat를 사용하여 행해지고 있지만, 다른 동물種의 특성에 관한 연구는 거의 없다. Durschlag와 Robinson<sup>16)</sup>은 Swiss Albino 수컷 mouse를 이용하여 12일간 orotic acid 1% 투여에 의하여 肝臟지질농도의 감소는 나타나지 않았지만, 29일간 5% orotic acid투여에서는 肝臟脂質농도가 현저하게 감소된 것이 보고되고 있다. 그리고 ICR, C57BL, AKR mouse에 5% orotic acid투여에서는 肝臟脂質농도가 감소하는 것이 보여졌지만, Valli 등<sup>17)</sup>은 mouse에 30일간 4% orotic acid투여에서는 간장지질농도 감소는 인정되지 않았다. KK와 KK-A<sup>y</sup> mouse<sup>16)</sup>에 orotic acid투여에서는 간장지질농도가 저하경향을 나타내었지만 유의차는 인정되지 않았다. 본 연구에 있어서는 mouse에 1% orotic acid투여에서 肝臟 triglyceride농도는 2배 감소하고, 血清 triglyceride농도는 높은 경향이 나타났다. Durschlag 등<sup>16)</sup>은 rat와 mouse에[6-<sup>14</sup>C] orotic acid경구 투여한 결과 mouse는 rat보다 빨리 흡수되었음에도 불구하고 간장에 들어간 양은 적고, 신장에 들어간 양은 많아 뇨중으로의 배설량도 높은 것이 보여졌다. Orotic acid투여에 의한 肝臟脂質농도의 증가는 rat특유의 현상이라는 것이 보고되어지고 있다<sup>17)</sup>. Orotic acid는 肝臟으로부터 high density lipoprotein의 분비에는 영향을 미치는 것이 아니고<sup>4)</sup> very low density lipoprotein (VLDL)-apo-B 분비를 저해한다. 이것은 apo-B 합성저해에 의한 것이 아니고, trans Golgi체가 그 이전의 지질과 packing modify에 의한 것으로 생각되어진다<sup>8)</sup>. 종래 보고되어져있는 orotic acid투여에 의한 지방간 발증의 기작으로서 lipoprotein, 주로 VLDL의 집

합, 방출 저해가 시사되어지고있다<sup>6,7,8,18)</sup>. Tokmakjian과 Haines는 orotic acid첨가에 의하여 지방산합성이 저해되는 것을 보고하고 있다<sup>9)</sup>. Orotic acid첨가에서 β-산화의 저하도 보고되고 있다<sup>19)</sup>. 고가불포화지방산의 전부를 n-6계 지방산과 orotic acid의 조합에서는 혈청 triglyceride농도가 감소하여 肝臟으로부터 lipoprotein방출부전을 지지하고있다. 그러나 n-6계지방산의 일부를 n-3계 지방산으로 치환시킬 경우, 혈청 triglyceride농도는 더욱 감소됨에도 불구하고, 肝臟 triglyceride농도의 증가 비율은 적지 않았다. 이러한 것으로부터 orotic acid유발 脂肪肝은 n-6 지방산 식이에서는 발증되기쉽고<sup>6)</sup> n-3계 지방산에서는 되기 어렵다는 것<sup>7)</sup>과 orotic acid유발 지방간은 혈청 lipoprotein분비 억제뿐만 아니라 설명되어지지 않고 다른 원인이 일부 관여하고 있는 것이 시사되었다<sup>20)</sup>.

#### 肝臟 triglyceride생합성에 미치는 영향

Phosphatic acid에서 diacylglycerol생성을 촉매 하는 phosphatidic acid phosphohydrolase (PAP)를 Mg<sup>++</sup>무첨가 조건에서 측정되었다. rat에 orotic acid첨가에 의하여 microsomal획분과 cytosol획분의 PAP활성은 각각 2.3배 및 2.5배 증가하였다. 肝臟 homogenate획분에서도 같은 PAP활성증가가 인정되었다(Fig 1), 한편, mouse의 肝臟 homogenate획분에서 Mg<sup>++</sup>첨가 및 무첨가 조건에서 측정된 PAP활성에는 유의차가 인정되지 않았다(Fig 2).

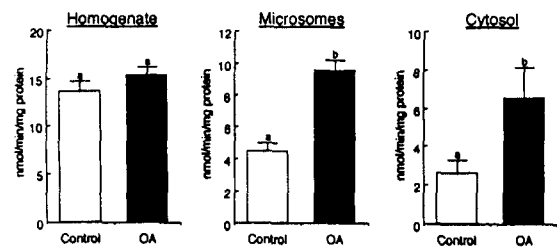


Fig. 1. Effect of orotic acid (OA) on the activity of phosphatidate phosphohydrolase in hepatic subcellular fractions of rats. (without Mg<sup>++</sup>). Rats were fed basal diet for 7 days and these divided to 2 groups. OA group was fed basal diet with 1% OA and Control group was fed basal diet without OA for 10 days. Values with different letters are significantly different at p<0.05.

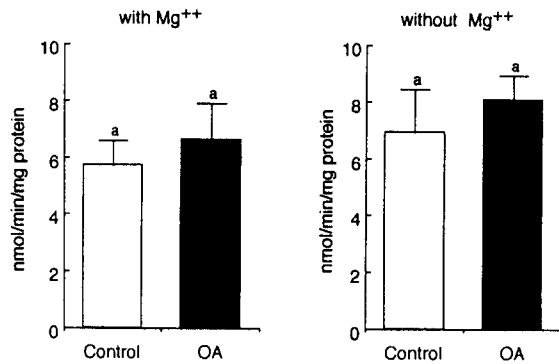


Fig. 2. Effect of orotic acid (OA) on the activity of phosphatidate phosphohydrolase in mouse liver homogenates. Mice were fed basal diet for 7 days and these divided to 2 groups. OA group was fed basal diet with 1% OA and control group was fed basal diet without OA for 10 days. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

여기서 본 연구에서는 肝臟 triglyceride 합성계에 미치는 orotic acid의 영향에 대하여 검토한 결과 phosphatidic acid로부터 diglyceride로의 탈 인산화를 촉매하는 PAP활성과 최종효소로서 diglyceride로의 acyl coA의 합성을 촉매하는 diglyceride acyltransferase활성은 肝臟細胞에서 현저하게 亢進하는 것이 인정되었다. Day 등<sup>3)</sup>은 사람의 alcohol성 脂肪肝의 cytosol과 microsome에서 N-ethylmaleimide sensitive PAP활성이 증가한다는 보고를 하고있다. Baboone과 hamster에도 alcohol성 유발지방간의 cytosol과 microsome에서의 PAP활성의 증가가 증명되어져있다<sup>21,22)</sup>. 이러한 것으로부터 orotic acid유발지방간의 발증 기작 일부에 triglyceride합성효소의 항진이 개입된 triglyceride합성의 증가가 관여하고 있는 것이 강하게 시사되었다.

## 요 약

Orotic acid 1% 투여에 의해 유발된 脂肪肝 SD-계 rat와 kud : ddY mouse의 중성지질대사에 미치는 n-6계 지방산의 효과에 대하여 검토하였다. 그 결과 rat에 orotic acid무첨가 식이와 비교할 때 1% orotic acid 및 n-6계 PUFA(linoleic acid)가 함유된 반합성 식이 투여군에서 간장의 trig-

lyceride함량은 유의적으로 증가하였고, 반면 혈청 triglyceride함량은 감소하였다. 이에 비해, mouse는 orotic acid 1% 함유식이 투여에 의해 간장triglyceride 함량은 rat와 달리 증가하는 경향이였다. 중성지질 최종제한 단계 효소인 phosphatic acid phosphohydrolase의 활성은 triglyceride 합성을 촉진시켰으며, orotic acid첨가 식이를 투여한 rat의 간장 cytosol 및 microsome에서도 같은 경향이였다. 이러한 것으로부터 이 효소의 활성은 rat에 있어서 지방간 항진에 관여한다는 것이 강하게 시사되었다.

## 감사의 글

본 논문은 1996년도 동아대학교 연구기초자료비 지원에 의하여 수행된 연구 결과이며 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Witting, L. A. : Fatty liver induction ; inverse relationship between hepatic neutral lipid accumulation and dietary polyunsaturated fatty acids in orotic acid-fed rats. *J. Lipid Res.*, 13, 27(1972).
2. Pottenger, L. A. and Getz, G. S. : Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid-fed rats. *J. Lipid Res.*, 12, 450(1971).
3. Day, C. P., James, O. F. W., Brown, A. St. J. M., Bennett, M. K., Fleming, I. N. and Yeaman, S. J. : The activity of the metabolic form of hepatic phosphatidate phosphohydrolase correlates with the severity of alcoholic fatty liver in human beings. *Hepatology*, 18, 832(1993).
4. Novikoff, P. M., Roheim, P. S., Novikoff, A. B. and Edelman, D. B. : Production and prevention of fatty liver in rats fed clofibrate and orotic acid diets containing sucrose. *Laboratory investigation*, 30(6), 732 (1974).
5. 조영수, 김석환, 차재영 : Orotic acid투여가 흰쥐의 혈청, 간장 및 신장 지질 농도에 미치는 영향. *한국농화학회지*, 39(3), 206(1996).
6. Hay, R., William, R. F., Oc'onnell, W., Kirschner, J. and Oppliger, W. : Apolipoprotein of the orotic acid fatty liver : implications for the biogenesis of plasma lipoproteins. *J. Lipid Res.*, 29, 981(1988).
7. Hamilton, R. L., Guo, L. S. S., Felker, T. E., Chao, Y. and Havel, R. J. : Nascent high density lipoprotein from liver perfusates of orotic acid fed rats. *J.*

- Lipid Res.*, 27, 967(1986).
8. Cartwright, I. J., Hebbachi, A. M. and Higgins, J. A. : Transit and sorting of apolipoprotein B within the endoplasmic reticulum and golgi compartments of isolated hepatocyte from normal and orotic acid-fed rats. *J. Biol. Chem.*, 268, 20937(1993).
  9. Tokmakjian, S. D. and Haines, S. M. : Early effects of dietary orotic acid upon liver lipid synthesis and bile cholesterol secretion in rats. *J. Lipid Res.*, 26, 478(1985).
  10. Bieri, T. G., Stoews., G. S., and Briggs. G. M. : Report of the american institute of nutrition Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, 107, 1340(1977).
  11. Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 494(1957).
  12. Fletcher, M. J. : A colorimetric method for estimating serum triglyceride. *Clin. Chem. Acta.*, 22, 393(1968).
  13. Walton, P. A. and Possmayer, F. : Magnesium dependent PAP of rat lung : development of assay employing a defined chemical substrate which reflects the phosphohydrolase activity measured using membrane-bound and substrate. *Anal Biochem.*, 151, 479(1985).
  14. Duncan, D. B. : Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 1, 1(1959).
  15. Durschlag, R. P. and Robinson, J. L. : Orotic acid-induced metabolic changes in the rats. *J. Nutr.*, 110, 816(1980).
  16. Durschlag, R. P. and Robinson, J. L. : Species specificity in the metabolism consequences of orotic acid consumption. *J. Nutr.*, 110, 822(1982).
  17. Valli, E. A., Sarma, D. S. R. and Sarms, P. S. : Species specificity in orotic acid induced fatty liver. *Ind. J. Biochem.*, 5, 120(1968).
  18. Pottenger, L. A., Frazier, L. E., DuBien, L. H., Getz, J. and Wissler, R. E. : Carbohydrate composition of lipoprotein apoproteins isolated from rat plasma and from the liver of rats fed orotic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 54, 770(1973).
  19. Miyazawa, S., Furuta, S. and Hashimoto, T. : Reduction of  $\beta$ -oxidation capacity of rat liver mitochondria by feeding orotic acid. *Biochem. Biophys. Acta.*, 711, 494(1982).
  20. Yanagita, T., Oogami, K., Yamamoto, K., Cha, J. Y. and Nunez, J. : Triglycerol metabolism of fatty liver and the prevention by dietary n-3 fatty acid. *Proc. Jpn. Conf. Biochem. of Lipid*, 38, 3(1995).
  21. Savolainen, M. J., Baraona, E., Pikkariainen, P., and Leiber, C. S. : Hepatic triglyceride synthesizing activity during progression of alcoholic liver injury in the baboon. *J. Lipid Res.*, 25, 813(1984).
  22. Lamb, R. G., Wood, C. K., and Fallon, H. T. : The effect of acute chronic ethanol intake on hepatic glycerolipid biosynthesis in the hamster, *J. Clin. Invest.*, 63, 14(1979).