

肥満の糖及び脂質代謝に及ぼす影響 に関する in vitro の研究

説田 武*, 大井恵子**, 小田文子**,
西尾和子**, 山本晶子**

In Vitro Study on the Effect of Obesity on Carbohydrate and Lipid Metabolism

Takeshi Setsuda, M. D., Keiko Ohi, Fumiko Oda, Kazuko Nishio and
Masako Yamamoto.

肥満の主原因はカロリーの過剰摂取であるといわれているが、カロリー摂取とエネルギー消費のバランスは、視床下部の食餌摂取調節中枢（満腹中枢と空腹中枢）の調節によって営まれている。前者の破壊は著しい多食と肥満を、また後者の破壊はるい瘦を惹起する。先きに吾々は、視床下部の腹側内側隆起にある満腹中枢を選択的に破壊する Goldthioglucose (GT) を投与して肥満を起こさせたマウスでは、肝臓のトリグリセライド (TG) と総コレステロール及び血清の Pre- β リポ蛋白の増加を認め、また組織学的には臍ラ氏島の β 細胞の増殖と α 細胞の増殖傾向及び副腎皮質機能の亢進を示唆する所見を得たことを報告した。

今回は同じく GT 投与により肥満を起こさせたマウスについて、肥満発症の経過を追って肝臓及び脂肪組織の糖及び脂質代謝の変化を in vitro で追究する目的で、glucose を加えたメジウム中に両組織片を入れて incubate し、経時的に各組織の glucose uptake ならびにグリコーゲン、TG、NEFA 量及びメジウム中の TG、NEFA 量を測定すると同時に、肝臓、脾臓、副腎の組織学的検索及び血清インシュリン値の測定をも行った。なお、高脂肪食の摂取により肥満が起こるといわれているので、吾々は高脂肪食で飼育したマウスについても同様の検索を行なった。

実験材料及び実験方法

体重 15 g 前後の dd 系雄マウスを一定の温度 (23 ± 2°C) と湿度 (40 ± 10%) に調節し、照明時間を一定

* 栄養生理病理研究室, ** 昭和50年度本学卒業生。

(午前 8 時から午後 8 時まで) にした飼育室で、日本クレア製粉末飼料 CE-2 と水を自由に与えて飼育した。GT 投与マウスの約 30% が中毒死し、残りの約 30% に肥満が発症することを予想してマウス 215 匹に GT (Sigma 社) を投与した。GT は 50% の金を含有し、吸湿性が強くて分解されやすいので GT をホモジナイザーで十分磨砕した後、ゴマ油に懸濁し、中毒量の体重 g 当り 1 mg の GT をマウスの腹腔内に 1 回投与した。GT 投与後 7, 13, 17 週目にそれぞれ数匹のマウスを予め 16 時間絶食させた後、軽くエーテル麻酔して開腹し、肝静脈から採血、致死せしめ、肝、脾臓、副腎、副睪丸脂肪組織 (副睪脂) を別出した。別出した肝臓と副睪脂を直ちに氷冷した生食水中に漬けて incubation 実験に供した。別出した各臓器について組織学的及び組織化学的検索を行った。なお、日本クレア製粉末飼料 CE-2 に雪印バターを 35% 添加したものを高脂肪食とし、これを粉末飼料 CE-2 と一週毎に交互にマウス 55 匹に投与し、7, 13, 17 週目に各数匹ずつを剖検し、上記と同様の実験を行なった。

1. Incubation の実施方法

予め氷冷した生食水中に漬した肝臓と副睪脂からそれぞれ 55~60 mg の薄片を切り出し、数四分を併せて肝臓が 500 ± 20 mg、副睪脂が 300 ± 20 mg となるようにしてインキュベーション・メジウム 3 ml を入れた 20 ml 三角コルベン中に入れ、インキュベーターを用いて 37°C で毎分 90 回の速さで振盪しながら 30, 60, 90 分間 incubate し、incubation 前と 30, 60, 90 分後の各組織の glucose uptake と TG、NEFA 或いはグ

リコーゲン量及びメジウム中の TG と NEFA 量を測定した。glucose uptake は incubate した後のメジウム中の glucose 残量を測定して求め、組織 g 当りの mg で表した。インキュベーション・メジウムは Krebs-Ringer-Bicarbonate (KRB) buffer (PH 8.9) を氷冷しながら、O₂ 95%, CO₂ 5% 混合ガスを 2 分間通じて pH 7.4 に調整した後、15 m M glucose と 5% 牛血清アルブミンを加えたものを用いた。KRB buffer の組成は、0.15 M KCl 4%, 0.11 M CaCl₂ 3%, 0.154 M MgSO₄ 1%, bicarbonate buffer (0.05 M Na₂CO₃ : 0.1 M NaHCO₃=1 : 9) 21% に 0.154 M NaCl を加えて 100% としたものである。なお、メジウムの glucose 濃度を諸家の報告を参考にして 5 m M と 15 m M とし、肝切片を incubate して glucose uptake 及び TG とグリコーゲンを測定して比較検討した結果、15 m M の方が優れていることを知ったので、以後 15 m M glucose (メジウム 1 ml 当り glucose 3 mg) をインキュベーションに用いることにした。Fig. 1 はインク

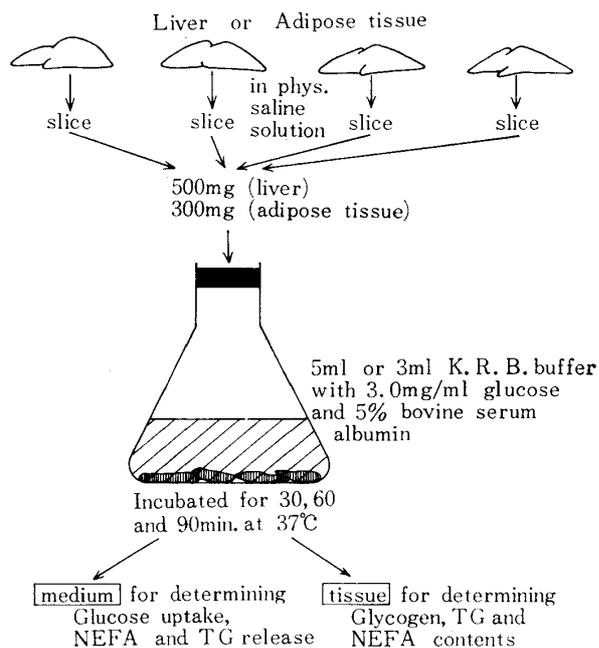


Fig. 1. Incubation procedure of the liver or epididymal adipose tissue

ュベーションの実施方法の概要を示す。

2. 化学的測定法

肝臓及び副腎脂の約 200 mg を 3.8 ml のクロロホルム・メタノール (2 : 1) 混液中に入れ、氷冷しながらホモジナイズし、ろ液に $\frac{1}{5}$ 容の蒸溜水を加えて水洗、3,000 r, 10 分間遠沈して下層を分離し得られた下層について同様に水洗と遠沈を行なった後、その下層を脂質抽出液とし、その 0.1 ml を用いて Van Handel-川

出変法により TG を比色定量し、また NEFA の定量は抽出液 1.0 ml を用いて Dole 法により NEFA を抽出し、これに N₂ ガスを注入、混和しながら $\frac{N}{100}$ NaOH で滴定した。

測定値は何れも組織 g 当りの mg 或いは μ M で表した。メジウム中の glucose はメジウム 0.5 ml を用いて Somogyi-Nelson 法により比色定量し、また肝臓のグリコーゲンは肝臓約 300 mg に熱アルカリを加えて液化した後、エタノールを加えて沈殿、分離の後、2 N-HCl にて加水分解し、0.5 N-NaOH で中和した後、Somogyi-Nelson 法で糖量として測定し、肝臓 g 当りの mg で表した。

3. 組織学的検査法

剔出した肝臓、膵臓、副腎、副腎脂を 10% 中性ホルマリン液で固定しパラフィン包埋の後、各組織の HE 染色を行なった。肝臓のグリコーゲンはカルノア液で再固定した後、PAS 染色を行ない、また肝臓と副腎の脂肪染色には凍結切片 (副腎のみはゼラチン包埋の後作成) についてズダン III 染色を行なった。膵ラ氏島の α -及び β 細胞の染色には、それぞれ Grimelius 染色及び aldehyde-fuchsin-trichrome 染色を行なった。

実験成績

1. 体重増加曲線 (Fig. 2)

GT 投与後肥満を来たしたマウス 25 匹 (GT 肥満群)

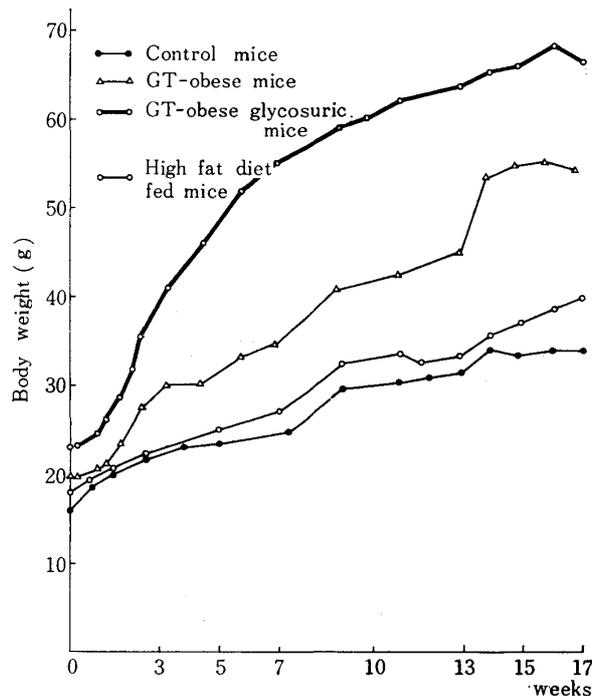


Fig. 2. Changes in body weight in each group of mice

では、GT 投与後体重が一時減少したが、1 週目頃から次第に増加し、3 週目以後は著増を示した。GT 投与後著しい体重の増加と糖尿を認めたマウス 4 匹 (GT 肥満糖尿群) では、肥満期には殆んど体重の増加を見

ず、軽い糖尿 (0.1—0.25%) をみた。高脂肪食で飼育したマウス 23 匹 (高脂食群) では、4 週目頃から体重が対照群マウスを多少上回る程度の増加を示した。

Table 1 に各群マウスの週別の平均体重を示す。

Table 1. Average body weight and average wet weight of the liver and epididymal adipose tissue in each group of mice

group of mice	Week	Average body weight (g)	Average wet weight of the liver (g)	Average wet weight of the epididym. adipose tissue (g)	% of the epididym. adipose tissue to body weight
Control mice	0	15.7	0.7	0	0
	7	22.6	1.6	0.15	0.7
	13	31.1	1.3	0.50	1.6
	17	36.6	1.3	0.78	2.1
GT-obese mice	7	26.9	2.1	0.47	1.7
	13	36.2	3.0	0.83	2.3
	17	48.6	1.8	2.34	4.8
GT-obese glycosuric mice	17-A	69.0	—	3.25	4.7
	17-B	62.2	—	2.95	4.7
	17-C	63.5	—	3.33	5.2
	17-D	72.0	2.6	4.66	6.6
High fat diet fed mice	7	21.8	1.5	0.21	1.0
	13	30.7	1.5	0.75	2.4
	17	39.7	1.9	0.83	2.1

2. 剖検時所見

肝臓は外観上各群マウスの間に差がないが、GT 肥満糖尿群マウスの肝臓は弾力性に乏しくて崩れやすく、白斑を認めた。副睪脂は肥満過程前期では発育が極めて貧弱であるが、以後増加して肥満期には腹腔内を覆う程度に著増した。腹腔内脂肪組織も同様に著増した。副睪脂の平均湿重量は、GT 肥満群及び GT 肥満糖尿群マウスで特に増加が著明で、その比体重 (体重に対する%) も肥満の進行に伴って増大した。各群マウスの週別の肝臓及び副睪脂の平均湿重量ならびに副睪脂の比体重 (%) を Table 1 に示す。

3. 組織学的所見

肝小葉の脂肪沈着は GT 肥満群マウスでは肥満の進行に伴って著明となり、特に GT 肥満糖尿群マウスでは脂肪沈着が著しく、び漫性である。高脂肪食群マウスでは肝臓の脂肪沈着は著明でない。肝臓のグリコーゲンは対照群マウスでは幼若なものに著しく多いが、発育が進むにつれて著減し、GT 肥満群マウスでは肥満の各時期とも少ないが、GT 肥満糖尿群マウスではむしろグリコーゲン顆粒が多く、肝小葉にび漫

性にみられる。高脂食群マウスでは、肝臓のグリコーゲン沈着は対照群マウスと大差がない。

HE 染色を施した副睪脂の脂肪細胞について長径と短径をマイクロメーターを用いて測定した結果、対照群マウスの平均 $72 \times 34 \mu$ に比べて、GT 肥満群マウスの肥満期では平均 $72 \times 42 \mu$ で増大の傾向を、また GT 肥満糖尿群マウスでは平均 $118 \times 67 \mu$ で著しい肥大を認めた。高脂食群マウスではむしろ小さく、平均 $49 \times 28 \mu$ であった。GT 肥満群マウスでは肥満の進行に伴って睪ラ氏島の増加と肥大及び β 細胞の増殖傾向がみられ、GT 肥満糖尿群マウスでは更にこれらの傾向が顕著である。ラ氏島の大きさ (μ) を短径 \times 長径で表すと、対照群マウス及び高脂食群マウスでは、それぞれ平均 $116.6 \times 156.3 \mu$ 及び $116.4 \times 185.5 \mu$ であるのに対し、肥満過程後期では平均 $193.5 \times 299.5 \mu$ で著明な肥大を示す。肥満過程後期及び GT 肥満糖尿群マウスでは、睪ラ氏島の α 細胞の増殖傾向がみられた。副腎皮質の幅は、GT 肥満群マウスの肥満期では平均 289μ 、また GT 肥満糖尿群マウスでは平均 356μ で、いずれも対照群マウスの値 (平均 236μ) に比べて大き

い。高脂食群マウスではむしろ低値(平均206 μ)であった。副腎皮質のズダン顆粒は、肥満過程ではび慢性に沈着するが、肥満期では顆粒の沈着にムラがみられた。

4. 肝臓及び副脂肪の incubation 成績

(A) 肝臓の incubation 成績

Table 2 は対照群マウスについて週別に測定した肝臓のグリコーゲン, TG, NEFA 量及び incubation 30

Table 2. The glucose uptake, glycogen and lipid contents and lipid outputs of, or from the incubated liver in each group of mice.

Group of mice	Control mice				GT-obese mice			GT-obese glycosuric mice				High fat diet bed mice			
	0	7	13	17	7	13	17	17-A	17-B	17-C	17-D	7	13	17	
Glucose uptake* (mg/g)	12.64	10.76	16.17	14.86	13.81	16.33	16.75	16.29	15.00	21.31	25.80	10.49	14.99	15.28	
Glycogen (μ g/g)	2159.1	315.4	925.6	456.7	7.0	205.1	302.2	—	—	—	—	400.0	346.5	337.2	
TG (mg/g)	5.19	8.12	18.61	10.97	27.46	25.69	14.45	29.16	—	19.32	22.35	0.54	8.68	4.66	
NEFA (μ M/g)	11.90	2.50	34.3	15.37	0	10.43	21.65	1.03	—	10.61	18.55	1.47	16.25	21.52	
in**	TG(mg/g)	0	0	0	0.64	0	0	0.1	0.88	0	0	1.81	0	12.22	0.60
medium	NEFA(μ M/g)	0.29	1.05	0.73	2.05	1.15	0.37	0.45	2.38	0.95	0.72	1.46	0.04	1.37	0.75

* 30 min. value

** max. value during the period of incubation

分後の glucose uptake を示す。肝臓のグリコーゲンは、幼若マウスの方が成熟マウスに比べて遙かに多いが、glucose uptake は成熟マウスの方が大きく、かつTGとNEFAも著しく多い。Fig. 3 は incubation 後の肝臓のグリコーゲン, TG, NEFA 量及び glucose uptake の時間的変動を示す。incubation 後、肝臓のグリコーゲンは各週ともに急速に著減し、TG は幼若マウスでは減少を、また成熟マウス(特に13週目)では著増するが、glucose uptake は各週とも類似の経時的変動を示す。17週目のマウスではメジウム中に TG の少量放出(0.64 mg/g)を認めた。NEFA は各週とも類似の経時的変動のパターンを示し、いずれもメジウム中に NEFA の少量放出(0.16~0.75 μ M/g)を認めた。なお、incubation 中に肝切片からメジウム中に放出される glucose 量が glucose uptake に影響することを予想して glucose の代わりに Na acetate を用いて incubation を行なった結果、肝切片から放出される glucose が経時的に増加するが、肝切片の glucose uptake に比べると微量であり、また TG 合成に関する限りでは 15 mM Na acetate と 15 mM glucose が略々同じ代謝能力を有することを知った。

GT 肥満群マウスについて、肥満の各時期別に測定した肝臓のグリコーゲン, TG, NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を Table 2 に示す。肥満の各時期ともに対照群マウスに比べて glucose uptake が大きい、肝臓のグリコーゲン量は著しく少ない。肥満過程の前、後期ともに TG が著増して NEFA が著減するが、肥満期では TG, NEFA ともに対照群マウスに比べて軽度の増加を示すにすぎない。

Fig. 4 は incubation 後の肝臓のグリコーゲン, TG, NEFA 量及び glucose uptake の時間的変動を示す。incubation 後は肥満の各時期ともに肝臓のグリコーゲンが急激に減少し、glucose uptake は経時的に上昇の傾向を示す。TG は incubation 後、肥満過程の前期では経時的に著減するが、肥満過程の後期と肥満期では一時的に著増し、肥満期ではメジウム中に TG の微量放出を認めた。NEFA は incubation 後、肥満過程の後期では変動がみられず、また肥満期では減少の傾向を示すが、肥満過程の前期では経時的に増加の傾向を示し、かつメジウム中の NEFA 放出量は他の時期に比べて多かった。

GT 投与後17週目の GT 肥満糖尿群マウス4匹の体重は、GT 肥満群マウスに比べて遙かに大きく、マウス A が 69 g, B が 62.2 g, C が 67 g, D が 72 g であった。各マウスの肝臓の TG, NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を Table 2 に示す。glucose uptake は4匹とも対照群マウスに比べて大きく、特にそのうちの2匹は GT 肥満群マウスよりも遙かに高値を示した。TG はいずれも著明に多いが、NEFA は反対に著しく少ない傾向を示した。

Fig. 5 は incubation 後の肝臓の TG, NEFA 量及び glucose uptake の経時的変動を示す。incubation 後、glucose uptake は2匹(マウス A, B)では著変なく、他の2匹(マウス C, D)では著減の傾向を示す。TG は2匹(マウス A, B)では減少の傾向を、他の2匹(マウス C, D)では増加の傾向を示し、特にマウス D ではメジウム中に TG の大量放出(1.81 mg/g)を認めた。NEFA は各マウスとも一時的に

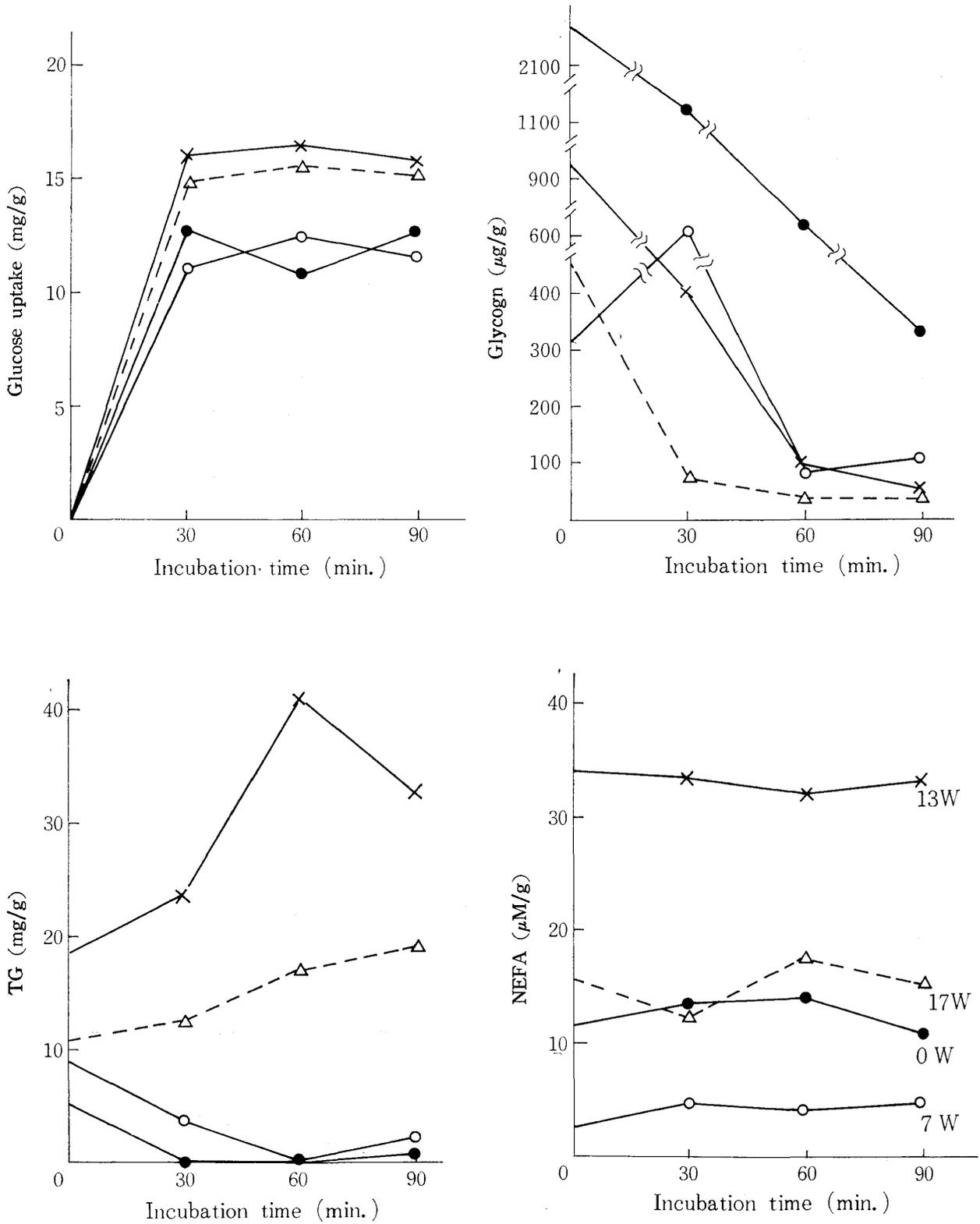


Fig. 3. Changes in the glucose uptake and the contents of glycogen and lipids of the liver during incubation in the control mice

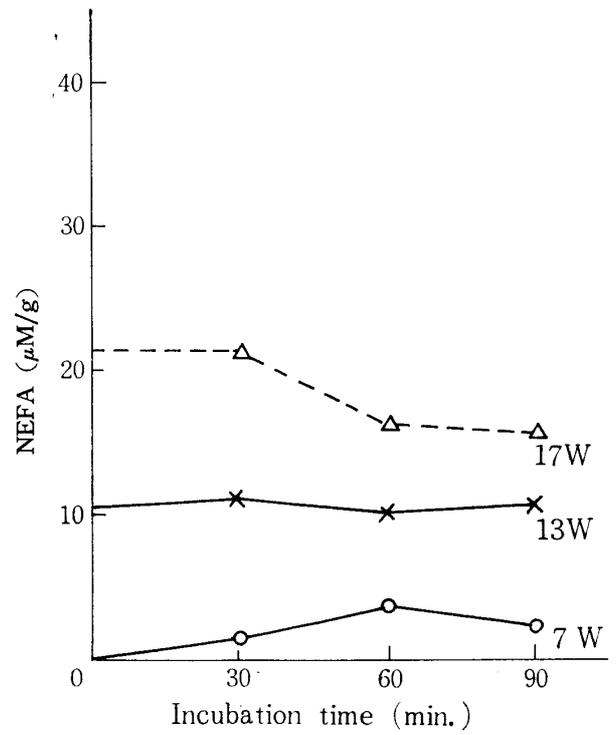
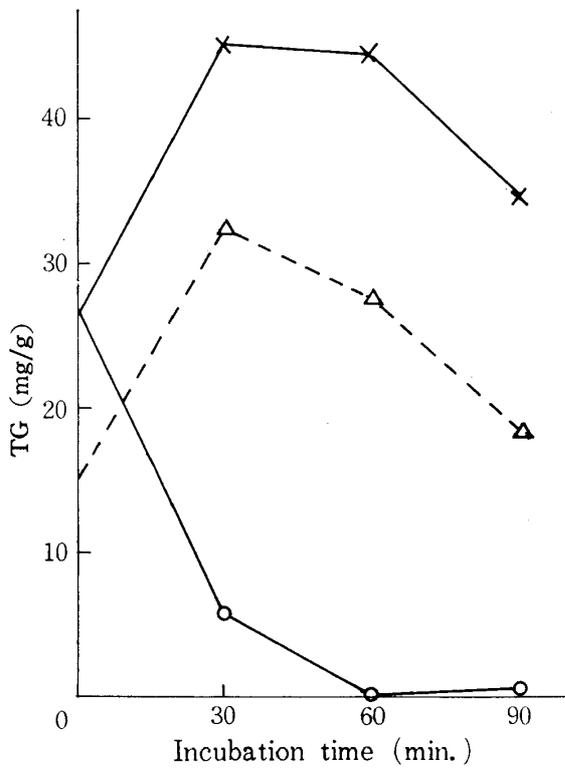
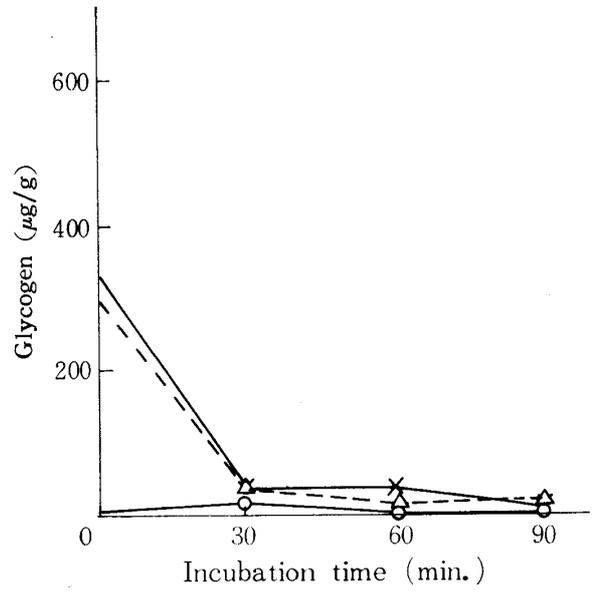
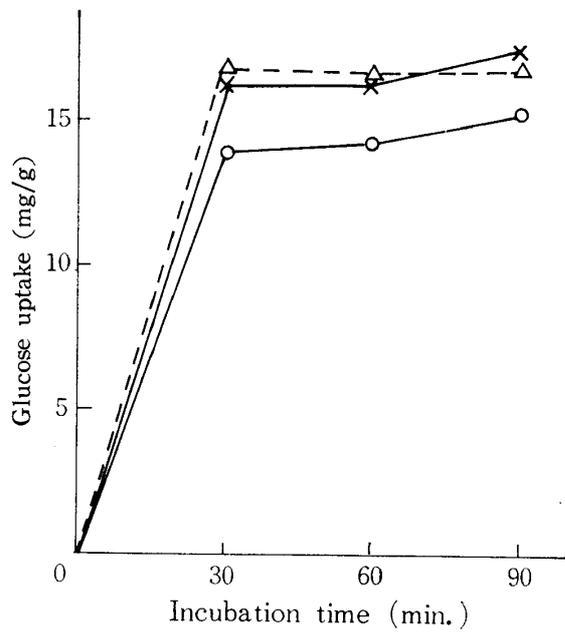


Fig. 4. Changes in the glucose uptake and the contents of glycogen and lipids of the liver during incubation in the GT-obese mice

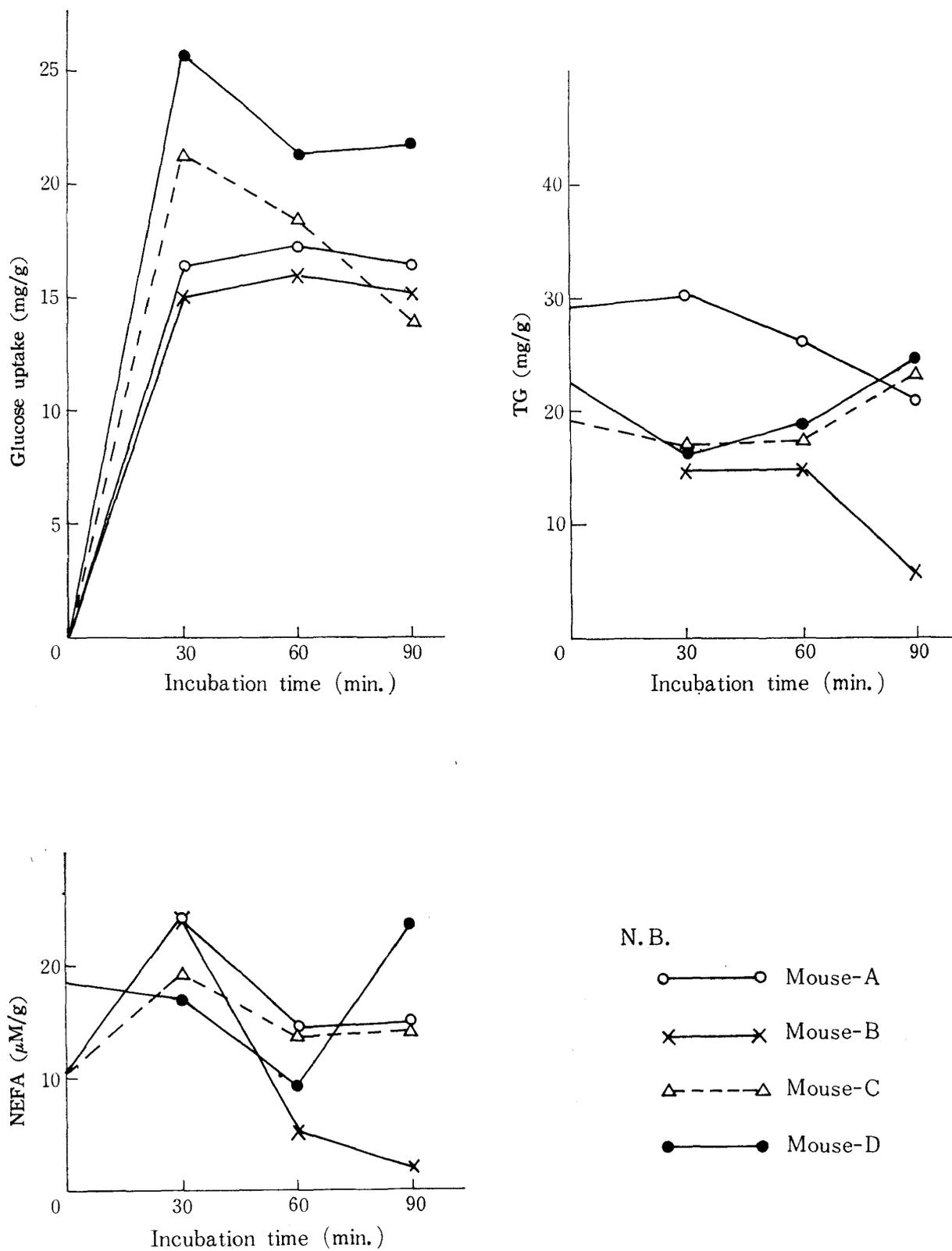


Fig. 5. Changes in the glucose uptake and the contents of TG and NEFA of the liver during incubation in the GT-obese glycosuric mice

増加した後に減少の傾向を示したが、メジウム中の NEFA 放出量 (最高 2.38~0.72 $\mu\text{M/g}$) はむしろ GT 肥満群マウスの放出量 (最高 0.45 $\mu\text{M/g}$) よりも多かった。

高脂食群マウスでは結局、肥満が発症しなかったが、各週別に測定した肝臓のグリコーゲン、TG、NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を **Table 2** に示す。対照群マウスに比べて肝臓の glucose uptake

及びグリコーゲン量には大差がないが、TG は各週ともに著しく低値で、NEFA も少ない傾向がみられる。incubation 後は、肝臓の glucose uptake 及びグリコーゲン、TG、NEFA 量はいずれも対照群マウスに近似の経時的変動を示した。

(B) 副睪脂の incubation 成績

Table 3 は対照群マウスについて各週別に測定した副睪脂の TG、NEFA 量及び incubation 30分後の

Table 3. The glucose uptake, lipid contents and NEFA output of, or from the incubated epididymal adipose tissue in each group of mice.

Group of mice	Control mice			GT-obese mice			GT-obese glycosuric mice				High fat diet fed mice		
	7	13	17	7	13	17	17-A	17-B	17-C	17-D	7	13	17
Glucose uptake* (mg/g)	23.13	16.30	15.49	16.62	15.42	16.18	17.16	16.75	14.35	23.45	30.49	17.29	—
TG (mg/g)	225.53	769.13	425.34	314.92	376.61	486.52	631.98	388.44	317.69	618.87	106.83	360.93	241
NEFA ($\mu\text{M/g}$)	3.24	21.50	12.14	7.18	1.11	2.98	12.34	0	5.38	0	2.66	5.68	31.34
NEFA in needium** ($\mu\text{M/g}$)	10.72	0.71	0.95	2.72	2.34	0.82	0.56	1.47	0.95	12.51	0.90	1.73	1.70

* 30 min. value

** max. value during the period of incubation

glucose uptake を示す。glucose uptake は幼若マウスの方が成熟マウスよりも大きいですが、TG と NEFA は幼若マウスよりも成熟マウスの方が著しく多い。メジウム中の NEFA 放出量は幼若マウスの方が著しく多い。(最高 10.72 $\mu\text{M/g}$) **Fig. 6** は incubation 後の副睪脂の TG と NEFA 量及び glucose uptake の経時的変動を示す。幼若マウスでは glucose uptake の減少と TG 及び NEFA の増加傾向を示し、メジウム中に多量の NEFA 放出を認めるが、成熟マウス、特に13週目のマウスでは TG と NEFA の減少傾向を認める。GT 肥満マウスについて肥満の時期別に測定した副睪脂の TG と NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を **Table 3** に示す。対照群マウスに比べて glucose uptake は肥満過程の前期が低値である以外は大差がなく、また TG は肥満過程の後期が低値である他は何れも軽度の増加を示す。NEFA は各時期、特に肥満過程の後期と肥満期では著しい減少を示す。**Fig. 7** は incubation 後の副睪脂の TG と NEFA 量及び glucose uptake の経時的変動を示す。肥満の各時期ともに glucose uptake は増加の傾向を、また TG は著明な一時的或いは持続的増加を示す。NEFA は incubation 後、肥満過程の前期では漸減の傾向を、また肥満過程の後期と肥満期では漸増の傾向を示し、肥満過程ではメジウム中に多量の NEFA 放出を認めた。

GT 投与後17週目の GT 肥満糖尿群マウス4匹の副睪脂の TG、NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を **Table 3** に示す。対照群マウスに比べて glucose uptake は概して高値で、GT 肥満群マウスに比べても4匹中3匹が高値を示す。TG は著増するものと減少するものが相半ばし、NEFA は著減の傾向を示し、とくに2匹では NEFA を証明できなかった。反対にメジウム中には NEFA の放出が著しく多い傾向がみられた。(最高 12.5 $\mu\text{M/g}$) **Fig. 8** は incubation 後の副睪脂の TG と NEFA 量及び glucose uptake の経時的変動を示す。incubation 後、glucose uptake は増加の傾向を、また TG は減少の傾向を示す。NEFA は90分後に著しい一時的増加を示した1匹(マウスD)を除き、経時的変動が少ないが、メジウム中には NEFA 放出の増加或いは増加傾向を認めた。

高脂食群マウスの各週別に測定した副睪脂の TG、NEFA 量及び incubation 30分後の glucose uptake を **Table 3** に示す。対照群マウスに比べて glucose uptake には大差がないが、TG と NEFA は著しく少ない傾向がある。また、incubation 後、glucose uptake と NEFA は何れも対照群マウスに近似の経時的変動を示すが、TG は各週ともに経時的に著増する傾向を認めた。

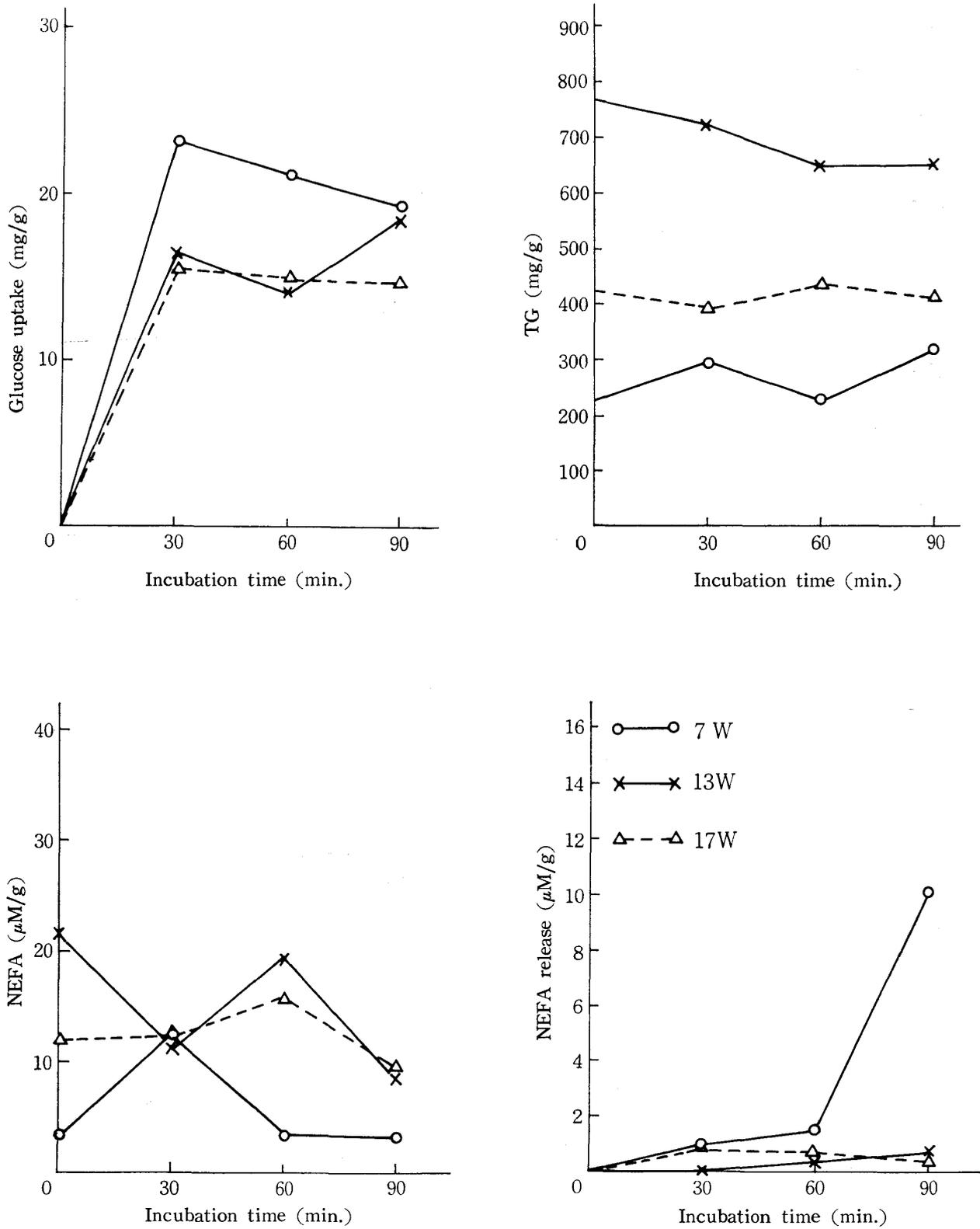


Fig. 6. Changes in the glucose uptake, lipid contents and NEFA release of, or from the epididymal adipose tissue during incubation in the control mice.

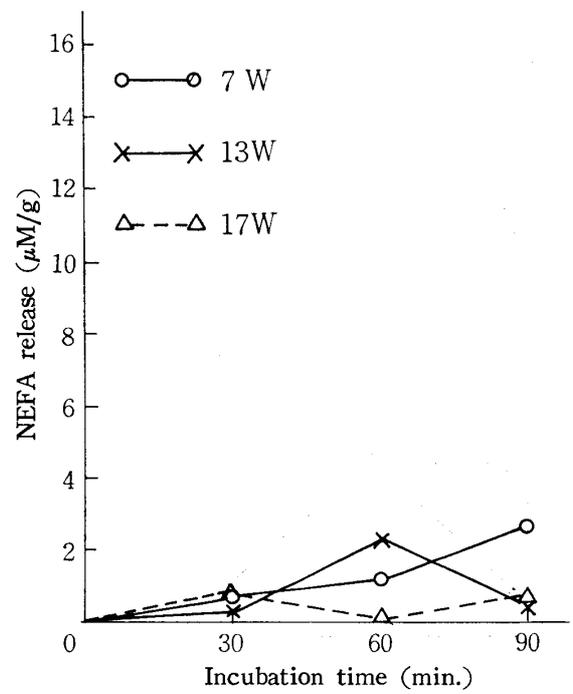
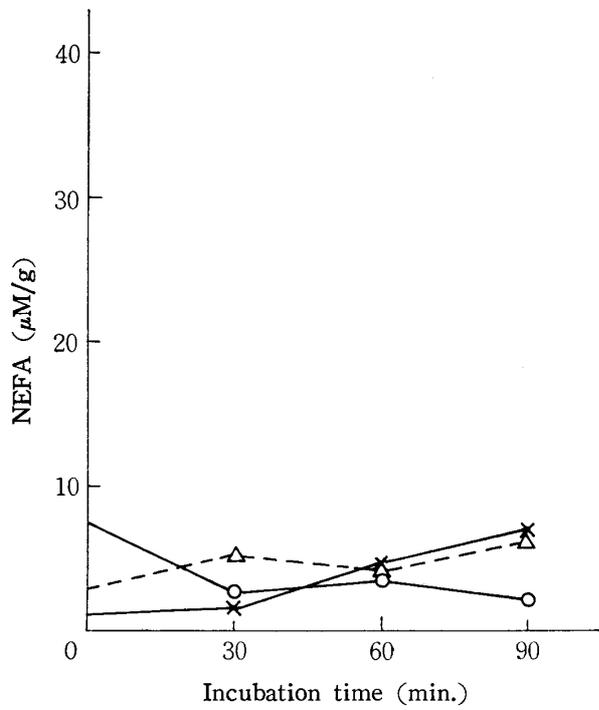
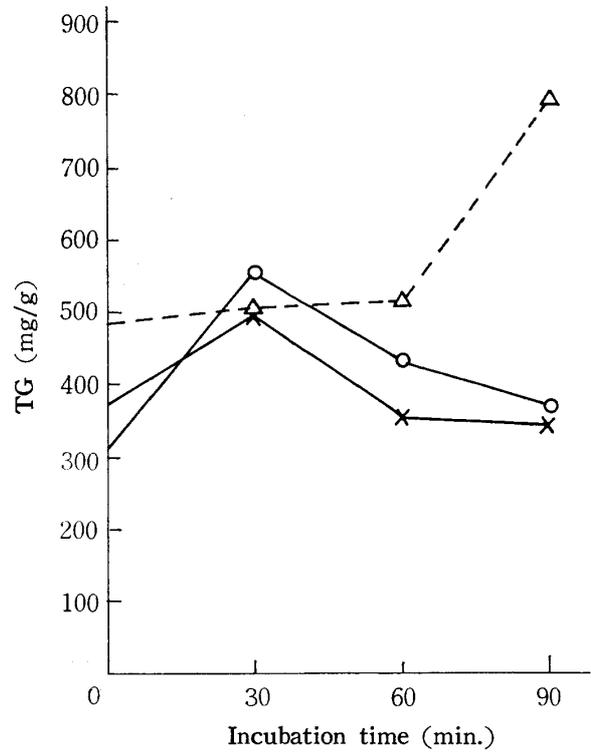
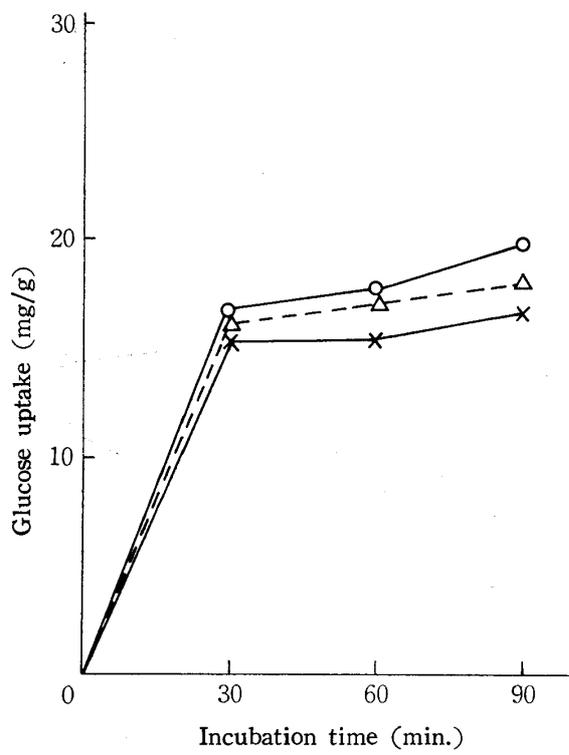


Fig. 7. Changes in the glucose uptake, lipid contents and NEFA release of, or from the epididymal adipose tissue during incubation in the GT-obese mice.

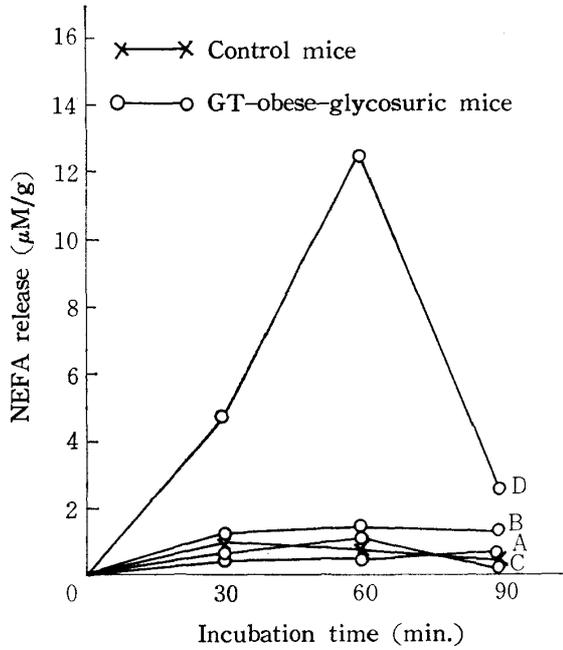
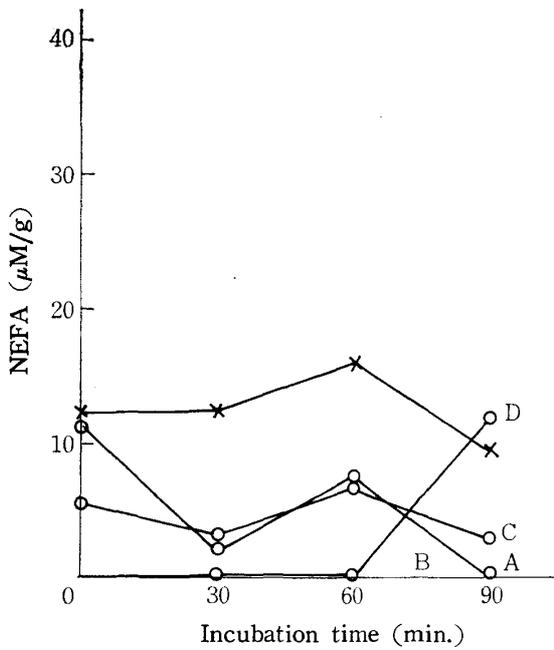
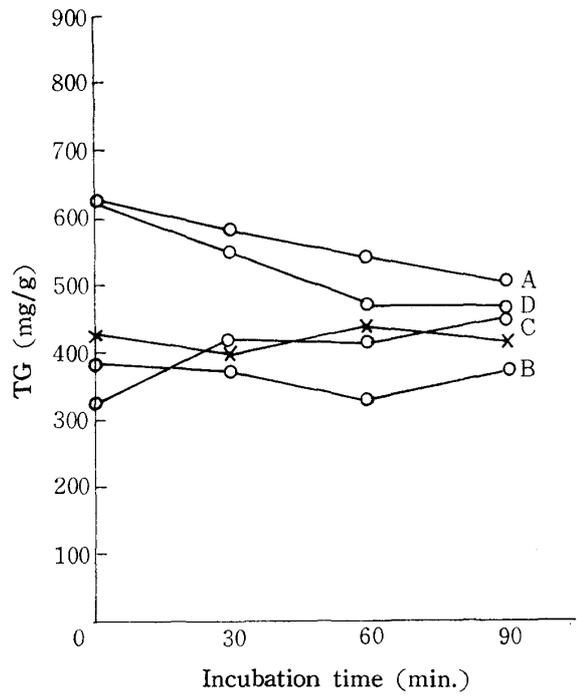
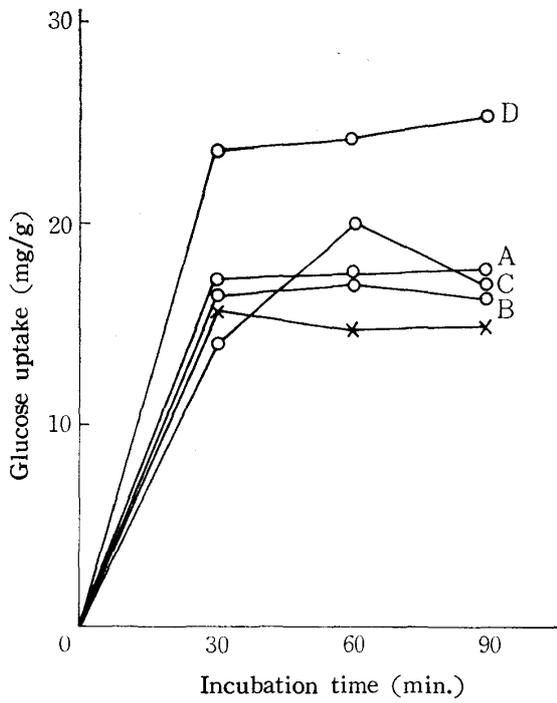


Fig. 8. Changes in the glucose uptake, lipid contents and NEFA release of, or from the epididymal adipose tissue during incubation in the GT-obese glycosuric mice.

5. 考察

GT 投与により肥満を発症した dd 系雄 マウスを肥満過程の前、後期及び肥満期に分けて、それぞれ肝臓と副睪脂を *in vitro* で incubate し、glucose uptake 及び TG, NEFA, グリコーゲン量ならびにメジウム中の TG, NEFA 放出量を生化学的に測定し、同時に各臓器の組織学的検索を行ない、興味ある 2, 3 の知見を得たので、それらを中心に考察する。

対照群マウスの肝臓では、成熟マウス (13及び17週目)の方が幼若マウス (7週目)に比べて glucose uptake ならびに TG 及び NEFA が何れも著しく高値である。体重 15 g 前後の未熟なマウスの肝臓ではグリコーゲンが著しく多いが、7週目以後は著しく減少する。glucose を加えたメジウム中で肝臓を incubate すると、経時的に TG は幼若マウスでは減少するが、成熟マウスでは著明な増加を示す。以上より、未熟なマウスの肝臓では脂質代謝が貧弱で、主に糖質がエネルギー源として利用されるが、発育に伴い肝臓では glucose からの TG 合成が盛んとなり、脂質代謝も活発化するものと思われる。一方、副睪脂では、glucose uptake は幼若マウス (とくに7週目)の方が成熟マウスに比べて大きい、TG と NEFA は成熟マウス (とくに13週目)の方が著しく多い。glucose を加えたメジウム中で副睪脂を incubate した場合、成熟マウスでは TG と NEFA の経時的変動が少ないが、幼若マウスでは TG の増加傾向と NEFA の一時的増加及びメジウム中の NEFA の著明な放出が認められる。従って、発育の盛んな幼若マウスの副睪脂では、glucose の摂取が大きく、glucose からの TG と NEFA の合成が盛んであると思われるが、同時に NEFA の放出も活発で、末梢組織で NEFA がエネルギー源に利用されるものと考えられる。それ故に、この時期では脂肪組織の TG が少なく、脂肪組織の発育も貧弱である。しかし、マウスの発育が進むにつれて、副睪脂の脂質合成が活発となり、TG と NEFA が著増する。

GT 肥満群マウスでは肝臓の glucose uptake は、肥満の各時期、特に肥満過程の後期と肥満期において高値を示し、同時に TG も著増するが、グリコーゲンは各時期とも減少し、特に肥満過程の前期では減少が著しい。NEFA は肥満過程で著減し、肥満期では増加する。肥満群マウスの肝重量 (Table 1) は 7, 13, 17週目にそれぞれ対照群マウスに比べて約 1.3, 2.3, 1.4 倍に増加するので、肝臓全体におけるグリコーゲンの減少と TG の増加は著しく増大するものと思われる。

肝臓を glucose を加えたメジウム中で incubate すると、肝臓の TG は経時的に肥満過程の後期と肥満期では著増の傾向を示すが、肥満過程の前期では反対に著減の傾向を示し、メジウム中に多量の NEFA が放出される。従って、この時期には恐らく TG の合成のみならず、分解も亢進しており、生成された NEFA が発育に必要なエネルギー源として各組織で盛んに利用されるものと思われる。

さて、肝臓に摂取された glucose は解糖経路を経て分解され、acetyl coA をへて究局的には TCA cycle に入り、酸化されてエネルギーに転換されるが、過剰に摂取された glucose は肝臓や脂肪組織で NEFA や TG の合成に、或いは又肝臓や筋肉でグリコーゲンの合成に利用される。然し、肝臓のグリコーゲン量には一定の限度があり、またグリコーゲンの代謝、すなわち合成と分解が速やかなために、TG 合成が活発な肥満マウスの肝臓ではグリコーゲンが TG の合成に利用される結果、グリコーゲンが著減することが考えられる。肝臓で合成された TG はリポ蛋白として血中に動員され、主に脂肪組織に運ばれるものと思われるが、GT 肥満マウスの肝臓を *in vitro* で incubate した際には、肝臓の TG は一時的に著増するが、メジウム中の TG の放出は僅かであった。

一方、肥満を起しつつある幼若マウス (7週目)の副睪脂では、対照群マウスに比べて glucose uptake は低値で、TG と NEFA は多いが、メジウム中の NEFA 放出が少ない。更に 13, 17週と肥満が進むにつれて副睪脂の TG が漸次著増するが、NEFA は反対に減少する。肥満マウスでは対照群マウスに比べて副睪脂の重量 (Table 1) が著増し、7, 13, 17週目にはそれぞれ対照群マウスの約 3 倍、1.6 倍、3 倍に増加するので、副睪脂全体で合成される TG 及びメジウム中に放出される NEFA は著しく増加するものと考えられる。glucose を加えたメジウム中で副睪脂を incubate すると、経時的に glucose uptake は肥満の各時期ともに増加し、TG も各時期、特に肥満期では著明な増加傾向を示す。以上のことから、肥満過程及び肥満期、特に肥満期の副睪脂では glucose からの TG の合成が活発であるが、同時に TG の分解によって生成された NEFA が盛んに血中に放出され、末梢組織でエネルギー源に利用されるものと推察される。

肥満が特に著明で糖尿を伴った GT 肥満糖尿群マウス (4匹)では肝臓の glucose uptake と TG は何れも GT 肥満群マウスに比べて著しく高値であるが、反対に NEFA は少ない。glucose を加えたメジウム中

で肝臓を incubate すると、TG が増加の傾向を示し、メジウム中に大量の TG の放出を認めたものが 2 匹(マウス C, D) あった。メジウム中には全例が著明な NEFA の放出を示した。

一方、副腎脂では glucose uptake が高値で、TG は肝臓と同じく、著増するものと減少するものが相半ばし、又 NEFA は著減する傾向を示し、メジウム中に NEFA の多量が放出される傾向がみられた。glucose を加えたメジウム中で副腎脂を incubate すると、glucose uptake の増加傾向と TG の減少傾向がみられるが、NEFA の経時的変動は少ない。以上より、GT 肥満糖尿病群マウスの肝臓と副腎脂では、TG 合成が著しく亢進するが、同時に TG の分解によって生成された NEFA が盛んに末梢へ放出されるものと思われる。

なお、肝臓を incubate した際、glucose uptake が著しい経時的減少を示したマウス(2 匹)では、後述する如く、肝臓の糖新生と関連して肝臓からの glucose の放出が増加し、その結果 glucose uptake の見掛上の低下を来たしたのではなからうかと考えられる。又、GT 肥満糖尿病群マウスでは、肝臓及び副腎脂の重量が対照群マウスの数倍にも増大するので、肝臓及び副腎脂で合成される TG と放出される NEFA 量は実質的には著しく増大するものと思われる。

GT 肥満糖尿病群マウスの膵臓では、ラ氏島の数と大きさの増大、 β 細胞の増殖のみならず、 α 細胞の増殖傾向が、又副腎皮質では幅の増大とズダン顆粒の増加傾向がみられたことから、インシュリン、グルカゴン及び糖質コルチコイドの分泌亢進が推察される。事実、GT 肥満糖尿病群マウスの 1 例では、血清インシュリン値が対照群マウスの値(50~60 μ U/ml) に比べて極めて高い値(233 μ U/ml) を示した。血中インシュリン¹⁴⁾の増加が肝臓の glucose uptake と直接関係がないとしても、肝臓で TG 或いは NEFA が glucos から合成されるのを促進することが考えられる。又、GT 肥満糖尿病群マウスの糖尿の出現は、膵ラ氏島の所見から明らかのように糖尿病に依るものではなく、多食による過血糖の他に、高インシュリン血症に拮抗して糖新生作用のあるグルカゴンや糖質コルチコイドの分泌が亢進する結果、体内では蛋白質或いはアミノ酸に由来する糖新生(Gluconeogenesis)の機序が存在するためと考えられる。その証拠として、組織学的に肝臓のグリコーゲン顆粒が対照群マウス或いは GT 肥満群マウスでは少ないが、GT 肥満糖尿病群マウスではむしろ反対に増加の傾向がみられ、かつ又膵ラ氏島の α 細胞

の増加傾向及び副腎皮質の肥大とズダン顆粒の増加傾向がみられ、グルカゴンや糖質コルチコイドの分泌亢進が示唆された。即ち、GT 肥満糖尿病群マウスではインシュリン分泌が亢進すると同時に、グルカゴン分泌も亢進しており、両ホルモンが肝臓及び副腎脂の TG 合成と分解に関係しているものと思われる。GT 肥満群マウス及び GT 肥満糖尿病群マウスでは、血中インシュリンの増加により肝臓及び副腎脂では glucose からの TG 或いは NEFA の合成が促進すると考えられるが、体内のエネルギー代謝の動的平衡(homeodynamics)を維持するには当然、インシュリンと拮抗的に働くグルカゴンや糖質コルチコイドなどの糖新生作用を持ったホルモンの分泌が亢進して TG の分解を促進することが推定される。

結局は肥満が起らなかった高脂食群マウスでは、肝臓及び副腎脂の glucose uptake 或いはグリコーゲン量は対照群マウスと大差がないが、TG と NEFA はいずれも著しく低値である。glucose を加えたメジウム中で incubate した場合、肝臓では glucose uptake と TG が、また副腎脂では glucose uptake と NEFA がそれぞれ対照群マウスと似た経時的変動を示したが、副腎脂では TG の著増傾向を認めた。高脂肪食は比較的少量の摂取でも満腹感を与えるので、高脂肪食の長期飼育では、GT 肥満群マウスにみられたような多食は起こらず、むしろ栄養障害を来たし、その結果肥満が起きなかったものと思われる。

6. 結 論

肥満の発症が糖及び脂質代謝に及ぼす影響を知る目的で、Goldthioglucose を投与して肥満を起こさせた dd 系雄マウスを肥満過程の前、後期及び肥満期に分けて、それぞれ肝臓及び副腎脂(白色脂肪組織)を glucose を加えたメジウム中で incubate し、経時的に各組織の glucose uptake 及び TG, NEFA 或いはグリコーゲン量ならびにメジウム中の TG, NEFA 量を生化学的に測定するとともに肝臓、膵臓、副腎の組織学的検査を行ない、また高脂肪食で飼育したマウスについても同様の検索を行なった結果、次の成績を得た。

(1) 対照群マウス 幼若マウスの肝臓では成熟マウスに比べてグリコーゲンが著しく多いが、glucose uptake は小さく、TG と NEFA が著しく少ない。incubation 後、肝臓の glucose uptake は成熟マウスと差がないが、TG が成熟マウスでは著増の傾向を示すのに対して減少の傾向を示す。メジウム中の NEFA 放出は両者とも少量である。また、幼若マウスの副腎

脂では、成熟マウスに比べて **glucose uptake** が大きい、**TG** と **NEFA** が著しく少ない。**incubation** 後、副臍脂の **TG** と **NEFA** が成熟マウスでは減少傾向を示すのに対して増加の傾向を示し、かつ成熟マウスに比べてメジウム中の **NEFA** 放出が著しく多い。

(2) **GT** 肥満群マウス 肥満過程の前、後期及び肥満期のマウスの肝臓では、何れも対照群マウスに比べてグリコーゲンが著しく少ないが、**glucose uptake** が大きく、**TG** が著しく増加する。**NEFA** は肥満過程では著しく少ないが、肥満期では増加する。**incubation** 後、肥満過程の前期では **TG** の著減傾向を、また肥満過程の後期と肥満期では **TG** の著増傾向を認め、前期ではメジウム中の **NEFA** 放出が多い。また、肥満の各時期ともに副臍脂では、対照群マウスに比べて **TG** が増加して **NEFA** が著減する傾向がみられる。**incubation** 後、肥満の各時期ともに **glucose uptake** と **TG** の増加傾向を示し、また **NEFA** の経時的変動が少ないが、肥満過程ではメジウム中の **NEFA** 放出が多い。従って、肥満の進行に伴い、肝臓と副臍脂では **TG** の合成と分解が活発となり、**TG** の蓄積と **NEFA** の血中動員が著しく促進するものと思われる。

(3) **GT** 肥満糖尿群マウス 著しい肥満と糖尿を伴った **GT** 肥満糖尿群マウスの肝臓では、対照群マウスに比べて **glucose uptake** が大きく、**TG** も多いが、**NEFA** は少ない。**incubation** 後、肝臓の **TG** は増加傾向と減少傾向が相半ばし、**NEFA** は減少傾向を示すが、メジウム中の **NEFA** 放出が多い。また、副臍脂では、概して **glucose uptake** が大きく、**TG** は著増するものと減少するものが相半ばし、**NEFA** は著減の傾向を示すが、メジウム中の **NEFA** 放出が多い傾向がみられる。**incubation** 後、副臍脂の **glucose uptake** が増加し、**TG** が減少傾向を示すが、**NEFA** の経時的変動は少ない。従って、**GT** 肥満糖尿群マウスの肝臓と副臍脂では、**TG** の合成が活発であると同時に、**NEFA** の血中動員も促進するものと思われる。

(4) 組織学的所見 肥満の進行に伴い、肝臓の脂肪沈着及び副臍脂の脂肪蓄積が著明となり、特に **GT** 肥満糖尿群マウスの副臍脂では、著しい脂肪細胞の肥大を認めた。これにはインシュリン分泌の亢進が関与するものと考えられる。

GT 肥満群マウス、とくに **GT** 肥満糖尿群マウスの膵臓ではインシュリンのみならず、グルカゴンの分泌亢進を、また副腎皮質では糖質コルチコイドの分泌亢進を示唆する組織学的所見が得られた。また、**GT** 肥満群マウスの肥満期では、肝臓のグリコーゲンが著し

く少ないが、**GT** 肥満糖尿群マウスでは増加の傾向を認めた。従って、**GT** 肥満糖尿群マウスの糖尿の出現には、グルカゴンや糖質コルチコイドの分泌亢進による糖新生が関与するものと思われる。

(5) 高脂食群マウス 高脂肪食による長期飼育にも拘らず、肥満が起こらなかった。肝臓では **TG** と **NEFA** が少なく、副臍脂でも **TG** と **NEFA** が著減の傾向を示し、また **incubation** 後は **TG** の著増傾向を認めた。従って、高脂食群マウスでは、多食が起こらず、むしろ栄養障害の結果、肥満が起こらなかったものと思われる。

本研究の概要は第49回日本内分泌学会総会（昭和51年4月、東京）において口演発表した。

謝辞：本研究に協力を賜った京大病理学教室の岡本英二先生ならびに京都専売病院検査科の玉田妙子氏に厚く感謝する。

参 考 文 献

1. 森本靖彦：病態生化学Ⅰ，646—682（1968）朝倉書店（東京）
2. 内藤周幸：代謝および酵素Ⅰ，96—102（1971）中山書店（東京）
3. 嶋津 孝，公文 明：臨床科学11，848—858（1975）
4. 説田 武，他：京都女子大学食物学会誌 30，5—14（1975）
5. Stedman's medical dictionary 1433（1972）Williams & Wilkins Co. (Baltimore)
6. 日本化学会化学便覧基礎編Ⅱ，1318（1966）丸善書店（京都）
7. 岡 博，他：18回日本糖尿病学会総会；糖尿病 18（補冊）28（1975）
8. 浅野 喬，他：全上；糖尿病 18（補冊）21（1975）
9. 竹内三郎，他：全上；全上 22（1975）
10. 川出真坂：臨床化学分析Ⅲ，40—56（1966）東京化学同人（東京）
11. 春日誠次：全上，106—112（1966）全上
12. 金井 泉，他：臨床検査法提要Ⅶ，47—49（1941）金原書店（東京）
13. 細谷憲政：栄養学実験 57—59（1970）朝倉書店（東京）
14. Harold A, Harper：ハーバー生化学 253—289（1975）丸善書店（京都）
15. 山村雄一：病気と代謝 88—97（1975）世界保健通信社（大阪）