

Goldthiogluucose 肥満マウスにおける 脂酸代謝に関する研究

策 1 編 1-¹⁴C-acetate よりの脂酸合成について

岡山大学医学部第 2 内科学教室 (主任 : 平木潔教授)

藤 井 靖 久

[昭和 49 年 5 月 22 日 受稿]

目 次

第 1 章 緒 言

第 2 章 実験動物ならびに実験方法

第 1 節 実験動物

第 2 節 実験方法

第 1 項 in vivo における実験方法

第 2 項 in vitro における実験方法

第 3 項 脂質処理の方法

第 3 章 実験成績

第 1 節 実験動物の体重, 血清総脂質および肝
の総脂酸構成百分率

第 2 節 in vivo における 1-¹⁴C-acetate より
の肝脂質成分への¹⁴Cとりこみ

第 1 項 総脂酸および非けん化分画への¹⁴C
とりこみ

第 2 項 主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ百分率

第 3 項 総脂酸の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百
分率

第 4 項 トリグリセライド (TG) の各脂酸へ
の¹⁴Cとりこみ百分率

第 5 項 リン脂質 (PL) の各脂酸への¹⁴Cと
りこみ百分率

第 3 節 in vivo における 1-¹⁴C-acetate より

の血漿主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ
百分率

第 4 節 in vitro における 1-¹⁴C-acetate より
の肝脂質成分への¹⁴Cとりこみ

第 1 項 総脂質, 総脂酸および非けん化分画
への¹⁴Cとりこみ

第 2 項 主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ百分率

第 3 項 総脂酸の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百
分率

第 4 項 トリグリセライド (TG) の各脂酸へ
の¹⁴Cとりこみ百分率

第 5 項 リン脂質 (PL) の各脂酸への¹⁴Cと
りこみ百分率

第 5 節 in vitro における 1-¹⁴C-acetate より
の脂肪組織脂質成分への¹⁴Cとりこみ

第 1 項 総脂質, 総脂酸および非けん化分画
への¹⁴Cとりこみ

第 2 項 主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ百分率

第 3 項 総脂酸の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百
分率

第 4 章 考 按

第 5 章 結 語

第 1 章 緒 言

Goldthiogluucose を albino マウスに注射すると、
肥満を生ずることを Brecher が 1949 年に報告した¹⁾
が、その後 Marschall, Barnett と Mayer²⁾は gol-
dthiogluucose による肥満動物では、視床下部の腹内
側核が破壊されるために過食によって肥満が生じる
ことを明らかにした。また、1940 年にすでに Heth-

erington ら³⁾は、視床下部腹内側核を電氣的に破壊
することにより肥満が発生することを報告している。
さらに、Bates, Mayer ら⁴⁾は、上記の視床下部性
肥満を代謝異常のない調節性肥満と呼ぶのに対し、
肥満の原因が脂肪組織自身の 1 次的な代謝異常にあ
るとされている遺伝性高血糖肥満マウスを代謝性肥
満として区別している。

これらの肥満動物の肝および脂肪組織における脂

質代謝に関する報告^{4) 5) 6)}は多いが、各脂酸の合成面における代謝動態に関する報告は未だみられない。

そこで、私は goldthiogluucose 肥満マウスにおける脂酸代謝の特異性を明らかにする目的で $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate を precursor とし、各脂酸への ^{14}C とりこみを、肝および脂肪組織について検討した。

第2章 実験方法

第1節 実験動物

生後4週の体重16g前後のCBA系雄性マウスを2群に分け、1群は対照(以下 control 群と略す)とし、他の1群には体重1gあたり0.5~1mgの goldthiogluucose を腹腔内に注射し(以下 GTG 群と略す)、3ヶ月後にそれぞれ実験に使用した。飼料はオリエンタル固形飼料(マウス・ラット飼育用)である。

第2節 in vivo における実験方法

4時間の絶食後、生理食塩水に溶解した $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate Na (57mCi/m mole) $10\mu\text{Ci}$ を腹腔内に注射した。注射後20分、1および4時間目に、エーテル麻酔下、眼窩静脈より採血を行った後、開腹した。開腹後、門脈を通じて生食水により肝を灌流し、肝の摘出を行った。

第3節 in vitro における実験方法

肝スライス500mgおよび副睾丸脂肪組織100mgを Krebs-Ringer bicarbonate buffer PH 7.4 (3% bovine albumin, 100mg/dl glucose 含有) 5ml および $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate Na 生食水 $5\mu\text{Ci}$ と共に95% $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ の気相の中で、 37°C 3時間振盪培養した。Incubation 後、medium を含めて脂質を抽出した。

第4節 脂質処理の方法

栗井の方法⁷⁾によって行った。すなわち、脂質の抽出は Folch ら⁸⁾の方法に準じて行い、chloroform : methanol (2 : 1) を用いて粗脂質を抽出し、0.73% 食塩水で3回水洗し、減圧乾固した。得られた総脂質の1部を、Björntorp⁹⁾の方法により10N KOH 0.5ml, ethanol : ethylether (2 : 1) 50ml の中で4時間けん化し、石油エーテルを用いて非けん化分画を抽出した。残ったけん化分画に1.5N HCl 10ml を加えて酸性にし、石油エーテルを用いて総脂酸を抽出した。得られた総脂酸を、Metcalf および Schmitz¹⁰⁾の方法により、5% BF_3 methanol 3ml の中でメチル化した。

また、総脂質の1部を Kieselguhr G の薄層クロ

マトグラフィによって、主要脂質(以下、リン脂質を PL、遊離コレステロールを FC、遊離脂酸を NEFA トリグリセリドを TG およびエステル型コレステロールを EC と略す)に分画し、各分画を抽出した。その中、PL および TG 分画は、Stoffel ら¹¹⁾の方法に準じて5% HCl methanol で直接メチル化した。

次に、メチル化した脂酸をガスクロマトグラフィにより、chromosorp P に20% diethylene glycol succinate を coating したカラム (3mm×300cm) を通じて、個々の脂酸に分離した。各ピークにおいて流出する各脂酸メチルを、脱脂後シリコン処理したタバコフィルターを用いて trap、その放射活性を測定した。

総脂質、総脂酸、非けん化分画(主としてコレステロール)、主要脂質分画および各脂酸の ^{14}C 放射活性は、液体シンチレーションカウンターにより、POPOP (1-4-bis-2-(5-phenyloxazolyl)-benzene), PPO (2-5-diphenyloxazole), トルエン系シンチレーターを用いて測定した。また、総脂質、総脂酸および非けん化分画にとりこまれた ^{14}C は肝および、脂肪組織100mg(湿性重量)あたりのcpmで表現し、主要脂質分画および各脂酸にとりこまれた ^{14}C は、百分率で表現した。なお、血清総脂質は、Bragdon 法¹²⁾により測定した。

第3章 実験成績

第1節 実験動物の体重、血清総脂質および肝の総脂酸構成百分率

実験を行った2群の動物の体重は、control 群で $25.1 \pm 4.2\text{g}$ (平均値±標準偏差) ($n=41$)、GTG 群で $33.2 \pm 7.7\text{g}$ ($n=48$)であった。

血清総脂質は、control 群で $301 \pm 97\text{mg/dl}$ ($n=13$)、GTG 群で $364 \pm 118\text{mg/dl}$ ($n=16$)であり、GTG 群において高値を示す傾向がみられた。

肝の総脂酸構成百分率では、表1のごとく両群において、有意の差はみられなかった。

また、肝組織検査では、両群とも脂肪肝の像はみられなかった。

第2節 in vivo における $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate より肝脂質成分への ^{14}C とりこみ

第1項 総脂酸および非けん化分画への ^{14}C とりこみ(表2)

総脂酸への ^{14}C とりこみは、 ^{14}C -acetate 投与後20分では、両群でほとんど差がみられなかったが、1時間目では、control 群 $178 \times 10^3\text{cpm}$ 、GTG 群 346

Table 1 Fatty acid composition of liver of control and GTG mice

Type of mouse	Fatty acid*							
	12 : 0	14 : 0	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	20 : 4
Control (8)*	0.10 ⁺ ±0.03	0.79 ±0.36	30.06 ±3.14	4.10 ±2.22	9.36 ±4.17	22.76 ±2.58	27.16 ±5.58	5.57 ±3.23
G T G (11)	0.09 ±0.03	0.71 ±0.20	29.60 ±5.76	4.18 ±1.96	9.41 ±3.94	21.23 ±6.29	28.86 ±9.79	5.91 ±3.44

* : Fatty acid are designated by carbon chain length (e.g. 16 : 0 = palmitic acid) and number of unsaturated bonds (e.g. 16 : 1 = palmitoleic acid)

+ : Mean percentage ± standard deviation

‡ : Number in parentheses indicates number of experiments

Table 2 Incorporation of ¹⁴C from 1-¹⁴C-acetate into total fatty acids and non-saponifiable fraction in liver in vivo

Time after administration of 1- ¹⁴ C-acetate	Type of mouse	Radioactivity of tissue lipids (CPM×10 ² /100mg tissue.)	
		Total fatty acids	Non-saponifiable fraction
20 minutes	Control (2)*	297.6	13.8
	G T G (2)	279.4	8.1
1 hour	Control (5)	178.3±75.1 ⁺	7.8±6.9
	G T G (5)	346.2±162.6	9.2±3.3
4 hours	Control (5)	127.6±60.1	5.4±2.1
	G T G (5)	183.1±94.8	7.6±3.0

* : Number in parentheses indicates number of experiments

+ : Mean ± standard deviation

Table 3 Percentage of ¹⁴C incorporation from 1-¹⁴C-acetate into major lipid classes in liver in vivo (mean ± standard deviation)

Time after administration of 1- ¹⁴ C-acetate	Type of mouse	Percentage of ¹⁴ C incorporation*				
		PL	FC	NEFA	TG	EC
20 minutes	Control (2)*	26.89	10.37	4.12	56.39	2.22
	G T G (3)	21.20 ±3.03	7.62 ±2.03	1.79 ±0.73	64.95 ±1.27	4.43 ±3.93
1 hour	Control (5)	28.49 ±7.75	3.51 ±1.78	2.66 ±2.33	63.64 ±9.96	1.63 ±0.65
	G T G (4)	29.93 ±13.71	4.75 ±3.10	0.97 ±0.54	62.43 ±11.65	1.92 ±1.02
4 hours	Control (2)	35.99	2.58	1.82	54.71	4.73
	G T G (2)	18.45	4.99	0.86	71.54	4.17

* : Number of experiments

+ : PL : Phospholipids FC : Free cholesterol NEFA : Non-esterified fatty acids
TG : Triglyceride EC : Esterified cholesterol

×10²cpmであった。すなわち、GTG 群では、1時間目において、総脂酸への¹⁴Cとりこみが亢進していた (p<0.1)、4時間目では、1時間目の場合とほ

ぼ同様の傾向がみられた。

非けん化分画への¹⁴Cとりこみは、20分、1および4時間目において、両群の差はみられなかった。

Table 4 Percentage distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acids of liver in vivo

(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Time after administration of 1- ^{14}C -acetate	Type of mouse	Fatty acids*						
		14:0>	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	20:0≤
1 hour	Control (6) ⁺	1.42	2.71 ±1.14	60.72 ±2.86	3.35 ±0.81	9.52 ±0.96	11.46 ±2.7456	6.99 ±1.84
	G T G (5)	1.13	2.05 ±0.86	56.43 ±6.25	5.04 ±1.54	9.21 ±1.98	19.04 ⁺ ±6.76	4.54 ±1.46
4 hours	Control (5)	1.98	3.93 ±4.24	55.77 ±3.35	2.54 ±1.40	10.96 ±4.89	8.77 ±5.47	13.58 ±6.23
	G T G (6)	1.34	1.70 ±1.00	52.54 ±6.06	5.14 ±4.69	11.52 ±0.88	17.30 ⁺ ±3.62	7.60 ±5.77

* : Fatty acids are designated as in Table 1. 14:0> indicates fatty acids with retention time shorter than that of myristic acid (14:0). and 20:0≤ indicates fatty acids with retention time greater than that of arachidic acid (20:0)

+ : Number in parentheses indicates number of experiments

± : P less than 0.05

Table 5 Percentage distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acids of triglyceride of liver in vivo

(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Time after administration of 1- ^{14}C -acetate	Type of mouse /	Fatty acids*							
		14:0>	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0≤
20 minutes	Control (3) ⁺	2.88 ±3.28	7.33 ±1.81	49.90 ±17.15	3.04 ±1.17	3.97 ±1.66	15.01 ±2.50	1.81 ±1.34	11.72 ±5.51
	G T G (3)	1.04 ±0.42	4.58 ±1.70	55.38 ±4.09	5.34 ±2.85	1.72 ±0.79	18.53 ±3.25	2.13 ±0.82	7.22 ±2.02
1 hour	Control (3)	1.97	6.01 ±1.45	55.05 ±5.36	4.32 ±2.04	2.39 ±0.64	15.79 ±6.63	1.23 ±0.40	11.16 ±5.33
	G T G (2)	0.73	3.41	50.33	9.09	2.71	26.68	0.78	4.15
4 hours	Control (3)	0.64	8.44 ±3.73	52.64 ±11.05	4.80 ±1.41	1.49 ±1.52	12.49 ±4.49	0.60 ±0.90	15.39 ±10.76
	G T G (2)	0.64	2.97	49.94	2.84	1.38	31.56	0.53	10.01

* : Fatty acids are designated as in Table 4

+ : Number of experiments

第2項 主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率 (表3)

^{14}C -acetate 投与後1時間目では、各分画とも両群に有意の差がみられず、TG分画では、control 群63%、GTG 群62%であった。一方、4時間目では、TG分画は control 群55%、GTG 群72%であり、GTG 群で、TG分画への ^{14}C とりこみ百分率が、1時間目から4時間目にかけて増加することが認められた。

第3項 総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率 (表4)

^{14}C -acetate 投与後1時間目では、GTG 群は、control 群に比して、palmitoleic acid (以下16:1と略す)と oleic acid (以下18:1と略す)へのとりこみ百分率が高く (16:1は $p < 0.1$, 18:1は $p < 0.05$)、arachidic acid 以上の retention time を有する脂酸 (以下20:0≤と略す)への ^{14}C とり

こみ百分率は相対的に減少した ($p < 0.1$) .

^{14}C -acetate 投与後4時間目では、1時間目の場合とほぼ同様の傾向が認められたが、18:1への ^{14}C とりこみ百分率では、control 群に比して、GTG 群は有意に増加した ($p < 0.05$) .

また、stearic acid (以下18:0と略す) は、両群とも、1, 4時間目においては、9~11%であり、ほとんど変化しなかった.

第4項 トリグリセライド (TG)の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率 (表5)

^{14}C -acetate 投与後20分では、両群において有意

Table 6 Percentage of distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acids of phospholipid of liver in vivo

Time after administration of 1- ^{14}C -acetate	Type of mouse	Fatty acids*							
		14:0 >	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0 ≤
20 minutes	Control (3) ⁺	7.43 [‡] ±9.07	4.16 ±2.68	40.61 ±17.49	3.07 ±1.23	18.02 ±11.98	4.68 ±0.68	3.50 ±3.01	10.12 ±6.05
	GTG (3)	5.46 ±5.62	2.33 ±1.10	46.89 ±9.93	3.37 ±1.30	20.80 ±6.53	8.25 ±1.72	1.54 ±0.84	7.25 ±3.39
1 hour	Control (3)	4.03 ±3.75	3.02 ±1.45	49.54 ±4.36	1.79 ±0.73	17.51 ±5.23	5.52 ±0.67	2.45 ±0.55	10.20 ±3.03
	GTG (3)	2.74 ±1.22	2.10 ±1.95	47.25 ±5.50	2.50 ±1.52	24.81 ±7.40	6.29 ±4.34	2.27 ±0.07	8.54 ±2.07
4 hours	Control (2)	1.53	0.82	50.53	1.41	23.35	3.74	1.19	13.04
	GTG (2)	1.66	3.41	36.30	0.83	35.92	9.08	0.99	8.35

* : Fatty acid are designated as in Table4 .

+ : Number of experiments

‡ : The mean percentage of total radioactivity ± the standard deviation

Table 7 Percentage of ^{14}C incorporation from 1- ^{14}C -acetate into major lipid classes in plasma in vivo

Time after administration of 1- ^{14}C -acetate	Type of mouse	Percentage of ^{14}C incorporation*				
		PL	FC	NEFA	TG	EC
20 minutes	Control (2) ⁺	22.59	15.21	37.31	17.72	8.09
	GTG (3)	27.52 [‡] ±11.80	18.04 ±9.76	11.39 ±2.96	42.18 ±26.07	3.67 ±2.85
1 hour	Control (7)	18.53 ±12.68	7.20 ±5.27	11.43 ±6.49	50.42 ±24.05	7.85 ±12.26
	GTG (6)	11.90 ±10.74	5.91 ±4.96	10.22 ±9.66	66.36 ±25.08	4.73 ±5.43

* : PL : Phospholipids FC : Free cholesterol

NEFA : Non-esterified fatty acids TG : Triglyceride

EC : Esterified Cholesterol

+ : Number of experiments

‡ : Mean ± Standard deviation

の差を認めなかったが、1時間目では、GTG 群は control 群に比較して、18:1への ^{14}C とりこみ百分率が増加し、myristic acid (以下14:0と略す)、16:0および20:0 ≤では相対的に減少する傾向をしめした. 4時間目では、GTG 群は control 群に比して、18:1への ^{14}C とりこみ百分率が増加していた.

また、18:0は両群とも、20分、1および4時間目において、1.3~3.9%であり、ほとんど変化しなかった. 一方、18:1は、control 群では20分15%、1時間15%、4時間12%と、やや減少する傾向がみ

Table 8 Incorporation of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate into total lipids, total fatty acids and non-saponifiable fraction by liver in vitro
(mean CPM $\times 10^2/100\text{mg}$ tissue $\pm$ standard deviation)

Condition	Type of mouse	Incorporation of ^{14}C		
		Total lipids	Total fatty acids	Non-saponifiable fraction
fed	Control (3) ⁺	41.2 $\pm$ 17.9	20.5 $\pm$ 2.8	3.6 $\pm$ 1.9
	G T G (3)	540.6 $\pm$ 453.0 *	263.9 $\pm$ 164.9	53.4 $\pm$ 50.5
fasted	Control (3)	20.7 $\pm$ 6.4	13.8 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.4
	G T G (5)	180.0 $\pm$ 92.1*	137.4 $\pm$ 96.7	11.0 $\pm$ 5.2

+ : Number of experiments

* : p less than 0.05

表一 Table 9 Percentage of ^{14}C incorporation from 1- ^{14}C -acetate into major lipid classes by liver in vitro

Condition	Type of mouse	Percentage of ^{14}C incorporation*				
		PL	FC	NEFA	TG	EC
fed	Control (3) ⁺	57.94 [‡] ± 9.67	10.44 ± 6.01	7.00 ± 2.47	22.74 ± 3.50	1.86 ± 2.11
	G T T (3)	40.96 ± 3.09	14.84 ± 11.34	2.19 ± 0.77	40.89 [▲] ± 8.96	0.89 ± 0.29
fasted	Control (3)	45.20 ± 2.00	9.61 ± 1.66	14.22 ± 2.74	30.78 ± 3.24	0.18 ± 0.25
	G T G (6)	48.68 ± 7.42	8.81 ± 4.57	4.96 [▲] ± 2.94	35.82 ± 8.80	1.72 ± 0.60

+ : Number of experiments

‡ : Mean $\pm$ standard deviation

* : PL, FC, NEFA, TG and EC are designated as in Table 3.

▲ : p less than 0.05

△ : p less than 0.005

られたのに対し, GTG 群では, 18 $\rightarrow$ 26 $\rightarrow$ 32%と経時的に増加した。

第5項 リン脂質 (PL) の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率 (表6)

control 群および GTG 群における PL の 18:0 への ^{14}C とりこみ百分率は, TG の 18:0 への ^{14}C とりこみ百分率に比して高く, 18:0 は TG よりも PL に対してより多くエステル化する傾向が認められた。

第3節 in vivo における 1- ^{14}C -acetate より血漿主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率 (表7)

^{14}C -acetate 投与後20分では TG 分画における ^{14}C とりこみ百分率は, GTG 群では control 群に比して高いが, 1時間目では, 両群の間に有意の差はみられなかった。

肝と血漿の主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率を, ^{14}C -acetate 投与後1時間目において比較すると, 肝に比して血漿では, FC, NEFA および EC への ^{14}C とりこみ百分率が増加していた。

第4節 in vitro における 1- ^{14}C -acetate より肝脂質成分への ^{14}C とりこみ

第1項 総脂質 総脂酸および非けん化分画への ^{14}C とりこみ (表8)

摂食時および12時間絶食後のマウスを用いて実験したが, GTG 群は control 群に比して, 総脂質, 総脂酸および非けん化分画への ^{14}C とりこみが, 絶食の有無にかかわらず有意に亢進していた。GTG 群における総脂質および総脂酸への ^{14}C とりこみの平均値は, control 群のその約10倍であった。

Table 10 Percentage distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acids of liver in vitro
(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Conditions	Type of mouse	Fatty acids*							
		14:0>	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0≤
Fed	Control (3) ⁺	6.32 ±1.86	6.32 ±0.95	38.40 ±2.02	2.76 ±0.85	9.76 ±0.69	4.88 ±1.28	3.11 ±0.32	20.59 ±2.07
	G T G (3)	1.31 ±0.75	6.43 ±1.57	56.23* ±1.41	4.86 ±2.20	6.84 [△] ±1.10	11.76 ±3.43	0.82 ±0.17	8.83 [△] ±3.27
Fasted	Control (2)	0.87	1.91	33.66	0	3.80	4.51	1.44	53.77
	G T G (5)	0	4.28 ±1.34	49.06 ±13.18	3.61 ±1.74	10.60 ±2.54	11.27 ±3.16	2.04 ±2.00	16.24* ±7.80

+ : Number of experiments

* : Fatty acids are designated as in Table 4.

△ : p less than 0.05

▲ : p less than 0.02

● : p less than 0.01

Table 11 Percentage distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acids of triglyceride of liver in vitro
(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Conditions	Type of mouse	Fatty acids*							
		14:0>	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0≤
Fed	Control (3) ⁺	11.51 ±5.50	8.34 ±2.13	24.65 ±3.16	3.64 ±0.39	4.26 ±0.59	6.37 ±3.39	4.00 ±0.90	27.87 ±5.44
	G T G (3)	1.54 ±0.36	11.60 ±2.58	46.78* ±2.72	5.94 ±2.40	1.71* ±0.24	15.44 ±4.55	1.34 ±0.17	12.88° ±3.09
Fasted	Control (2)	1.01	6.45	36.98	2.43	6.62	6.46	0.70	40.20
	G T G (6)	5.00 ±3.23	5.35 ±2.37	42.49 ±5.57	4.02 ±1.79	2.52 ±3.37	17.69° ±4.43	1.45 ±0.86	20.43° ±8.84

+ : Number of experiments

* : Fatty acids are designated as in Table 4.

● : p less than 0.01

○ : p less than 0.05

また、12時間の絶食により、総脂質および総脂酸への ^{14}C とりこみは、両群とも摂食時のもののほぼ50%に減少した。

第2項 主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率(表9)

摂食せしめたマウスにおいて、GTG群はcontrol群に比して、TGへの ^{14}C とりこみ百分率が著明に増加し($p < 0.05$)、NEFAおよびPLへの ^{14}C とりこみ百分率は、相対的に減少した($0.05 < p < 0.1$)

12時間絶食群では、GTG群はcontrol群に比して、NEFAへの ^{14}C とりこみ百分率が有意に減少した($p < 0.005$)。

次に、絶食の影響をcontrol群とGTG群の両群で比較すると、control群は絶食によりNEFAの増加($p = 0.05$)、PLの減少、TGの増加が認められ

るのに対し、GTG群では、PLの増加、NEFAの増加、TGの減少傾向が認められた。すなわち、絶食により、control群、GTG群ともに、NEFAへの ^{14}C とりこみ百分率が増加したが、PLおよびTGへの ^{14}C とりこみ百分率は、control群とGTG群で逆の関係が認められた。

第3項 総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率(表10)

摂食群において、control群に比してGTG群では、16:0の増加($p < 0.01$)、18:1の増加($0.05 < p < 0.1$)、18:0の相対的減少($p < 0.05$)、20:0の相対的減少($p < 0.05$)が認められた。

絶食群では、control群に比してGTG群で、18:0の増加($p < 0.05$)、18:1の増加、20:0の

相対的減少 ($p < 0.01$) が認められた。

絶食の影響を control 群と GTG 群の両群で比較すると, 14:0, 16:0 は両群で低下, 20:0 ≤ は両群で増加, 18:0 は control 群で減少, GTG 群で増加することが認められた。

第4項 トリグリセライド (TG) の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率 (表11)

摂食群において, control 群に比して GTG 群では, 16:0 の増加 ($p < 0.01$), 18:0 の減少 ($p < 0.01$), 18:1 の増加 ($0.05 < p < 0.1$), 20:0 ≤ の減少 ($p < 0.05$) が認められた。

絶食群では, GTG 群は control 群に比し, 16:0 の増加, 18:0 の減少, 18:1 の増加 ($p < 0.05$), 20:0 ≤ の減少 ($p < 0.05$) が認められた。

絶食の影響を, control 群と GTG 群の両群で比較すると, 両群ともに, 14:0, 16:0 の減少傾向, 20:0 ≤ の増加傾向が認められた。

第5項 リン脂質 (PL) の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率 (表12)

Table 12 Percentage distribution of ¹⁴C from 1-¹⁴C-acetate in fatty acids of phospholipid of liver in vitro
(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Condition	Type of mouse	Fatty acids*							
		14:0 >	14:0	16:0	16:1	18:1	18:1	18:2	20:0 ≤
Fed	Control (3) ⁺	3.04 ±0.81	4.22 ±0.86	40.85 ±4.81	4.14 ±0.96	10.38 ±1.34	3.83 ±1.51	3.85 ±0.46	19.95 ±2.30
	G T G (3)	1.15 ±0.50	2.78 ±0.62	58.45 ±6.07	3.94 ±0.94	11.30 ±1.22	8.64 ±3.66	1.59 ±1.27	9.20 ※ ±4.95
Fasted	control (2)	4.13	7.85	35.67	11.16	1.93	1.38	0	19.70
	G T G (6)	0.64 ±1.12	1.14 ±1.02	50.34 ±13.27	2.25 ±1.60	19.32 ±8.22	11.48 ±5.23	1.29 ±0.87	12.12 ±8.97

+ : Number of experiments

* : Fatty acids are designated as in Table 4.

※ : p less than 0.05

Table 13 Incorporation of ¹⁴C from 1-¹⁴C-acetate into total lipids, total fatty acids and non-saponifiable fraction in adipose tissue in vitro

Condition	Type of mouse	Radioactivity of tissue lipids (CPM × 10 ³ /100mg tissue)		
		Total lipids	Total fatty acids	Non-saponifiable fraction
fasted	Control (3) ⁺	254.9 ± 240.1	212.9 ± 201.0	4.9 ± 1.0
	G T G (6)	1059.7 ± 774.7	780.8 ± 632.5	11.8 ± 8.8

+ : Number of experiments

* : mean ± standard deviation

摂食群において, control 群に比して GTG 群では, 14:0 の減少 ($p < 0.02$), 16:0 の増加 ($p < 0.05$) 18:1 の増加 ($0.1 < p < 0.2$), 20:0 ≤ の減少 ($p < 0.05$) が認められた。

絶食群では, GTG 群は control 群に比して, 16:0, 18:0, 18:1 の増加, 20:0 ≤ の減少傾向が認められた。

絶食の影響を control 群と GTG 群の両群で比較すると, 18:0 は control 群で減少, GTG 群で増加した。

第5節 in vitro における 1-¹⁴C-acetate より脂肪組織脂質成分への¹⁴Cとりこみ

第1項 総脂質, 総脂酸および非けん化分画への¹⁴Cとりこみ (表13)

12時間絶食せしめたマウスの脂肪組織における総脂質および総脂酸への¹⁴Cとりこみは, GTG 群で, control 群の約4倍の高値が認められた。

非けん化分画への¹⁴Cとりこみは, GTG 群が control 群の約3倍であった。

Table 14 Percentage of ^{14}C incorporation from 1- ^{14}C -acetate into major lipid classes in adipose tissue in vitro

Condition	Type of mouse	Percentage of ^{14}C incorporation*				
		P L	F C	NEFA	T G	E C
Fasted	Control (3) ⁺	0.55 ⁺ ±0.41	13.71 ±2.23	17.60 ±5.86	68.12 ±5.09	0
	G T G (5)	3.68 ±2.13	28.46* ±3.70	9.06 ±4.22	58.63° ±3.66	0.16 ±0.19

+ : Number of experiments

* : PA, FC, NEFA, TG and EC are designated as in Table 3.

± : Mean ± standard deviation

● : p less than 0.01 ○ : p less than 0.05

Table 15 Percentage distribution of ^{14}C from 1- ^{14}C -acetate in fatty acid of adipose tissue in vitro
(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Condition	Type of mouse	Fatty acids*							
		14 : 0 >	14 : 0	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	20 : 0 ≤
Fasted	Control (3) ⁺	7.32 ±2.24	18.20 ±2.14	58.30 ±12.49	1.69 ±1.28	1.69 ±1.23	3.73 ±2.38	1.92 ±2.71	6.34 ±3.48
	G T G (6)	0.57 ±0.45	10.70 ±3.29	66.25 ±6.71	3.30 ±1.94	2.67 ±2.00	4.54 ±2.58	0.01 ±0.02	8.43 ±8.61

+ : Number of experiments

* : Fatty acids are designated as in Table 4.

第2項 主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率 (表14)

GTG群では, control群に比して, FCへの ^{14}C とりこみ百分率が増加し, TGおよびNEFAへの ^{14}C とりこみ百分率は, 相対的に減少した.

第3項 総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率 (表15)

GTG群は, control群に比して, 14 : 0への ^{14}C とりこみ百分率が低下傾向をしめす以外に, 各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率には, 有意の差が認められなかった.

第4章 考 按

Goldthioglucoseによる肥満は, 視床下部腹内側核の破壊により満腹中枢が障害されたために過食を招来し, その結果, 2次的に種々の代謝異常が起るものと考えられている. しかし, 電氣的に視床下部腹内側核を破壊した動物では, 処置後早期より, 脂肪組織の脂酸構成比の異常 (16 : 0および18 : 0比の上昇, 18 : 2比の低下, 18 : 2/16 : 0の低下)^(9, 13) 高インスリン血症^(14, 15, 16), 高トリグリセライド血症^(16, 17)

および成長ホルモン分泌障害⁽¹⁸⁾がみられることが知られており, 過食のみが肥満の成因であるとするには疑問がある.

Goldthioglucose 肥満動物では, 肝および脂肪組織における acetate よりの脂質合成は, 摂食時に亢進し, 絶食時に正常化するという報告^(1, 19)がみられるが, 著者の行った in vitro の実験成績では, 肝における ^{14}C -acetate よりの総脂質および総脂酸への ^{14}C とりこみは, 絶食の有無にかかわらず, GTG群においては control 群の約10倍に亢進していた. 12時間絶食後の脂肪組織においても, 総脂質および総脂酸への ^{14}C とりこみは, GTG群では control 群の約4倍に亢進していた. また, in vivo の実験においても, ^{14}C -acetate 投与後1時間目の肝では, 総脂酸への ^{14}C とりこみは, GTG群では control 群の約2倍の値をしめた.

このように, GTG群では, acetate よりの脂酸合成が亢進していることは明らかである.

ところで, 脂酸合成の律速酵素は, acetyl CoA carboxylase である⁽²⁰⁾と考えられており, 本酵素は, $\text{acetyl CoA} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{malonyl CoA} + \text{ADP}$

+H₃PO₄の反応を触媒するが, allosteric enzyme としての性質を有し, クエン酸等のトリカルボン酸によって賦活される。^{20) 21)} 最近, 中西・沼²²⁾によって, 遺伝性肥満マウス (C57BL/6J-ob) における肝抽出液中の acetyl CoA carboxylase 活性は, 正常マウスに比して肝臓あたり約6~10倍に増加しているが, この活性の増加は, 正常マウスの酵素蛋白と同じ酵素蛋白の量の増加であることが明らかにされた。また, 本酵素の合成速度と分解速度を測定し, 肥満マウスでは, 合成速度が肝臓あたり7.7倍増加し, 分解速度が1.7分の1に減少していたことから, 肥満マウスにおける acetyl CoA carboxylase の量の増加は, 主として合成速度の増加に起因し, 1部は分解速度の低下によることもしめされた。GTG群でみられた脂酸合成の亢進は, acetyl CoA carboxylase の活性上昇によると考えられるが, その増加の機序は, 上記の遺伝性肥満マウスにおける acetyl CoA carboxylase 活性増加と同様の機序によるものか否かは明らかでない。

なお, 著者の *in vitro* における実験において, 12時間の絶食により肝の脂酸合成は, control 群, GTG 群ともに, 50%減少することがみられたが, この点に関しても, 中西ら²³⁾は, 飢餓時のラットにみられる acetyl CoA carboxylase の酵素量の減少は, 酵素蛋白の合成速度の低下のみならず, 分解速度の上昇にも起因するとして, acetyl CoA carboxylase は, 種々の条件下で, 酵素量を増減していることを明らかにした。

一方, さらに, インスリンの関与についても考慮しなければならない。Hales ら¹⁵⁾は, 視床下部腹内側核を電気的に破壊したラットで, 術後7日目より摂食時に血中インスリンが著明に上昇することを報告している。また, 同様の報告^{14) 16)}がみられることから, 今回の実験の GTG 群においても, 高インスリン血症が存在するものと考えられる。インスリンが脂酸合成を促進する²⁴⁾ことは周知の事実であり, GTG 群においてみられた脂酸合成の亢進には, インスリンが重要な因子になっているものと推測される。しかるに, galbithioglucone 肥満マウスにおける acetyl CoA carboxylase とインスリンとの相互の関連については, なお充分な解明がなされていない。

脂酸合成の中, 飽和脂酸の合成は, malonyl CoA 經由合成経路を主とする *de novo* 合成経路と, 脂酸の "elongation" system の両者から成る²⁵⁾が, 前者の合成系は, 可溶性分画に存在して, 上記の acetyl

CoA carboxylase と脂酸合成酵素から成り, 合成される脂酸の大部分は16:0であり, 残りは18:0, 14:0, 12:0であるとされている。後者の "elongation" system は2種類あるとされている。すなわち, ミトコンドリアの "elongation" system は, Wakil²⁶⁾により, ネズミ肝のミトコンドリアで見出され, 長鎖の acyl CoA を primer として acetyl CoA が縮合し, NADH, NADPH の両者を cofactor とするとされている。ミクロゾームの "elongation" system は, Nugteren²⁶⁾によりネズミ肝のミクロゾームで見出され, malonyl CoA が縮合し, NADPH を cofactor とするとされている。

肝および脂肪組織における¹⁴C-acetate よりの総脂酸への¹⁴Cとりこみおよび総脂酸の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率の成績から, GTG 群では, control 群に比して, 16:0への¹⁴Cとりこみは明らかに亢進していた。また, 20:0 ≤ への¹⁴Cとりこみは, GTG 群の肝では, 百分率の上で相対的減少がみられたが, 絶対値は亢進していた。従って, GTG 群では, 上記の *de novo* 合成経路と "elongation" system の両者が亢進しているものと考えられる。また, 従来報告されている視床下部性肥満マウスにおける肝および脂肪組織の脂酸構成比の異常^{6) 13) 27)}は, 体内で合成されない18:2に対し, *de novo* 合成経路の亢進による16:0の増加によるものと考えられる。さらに, 12時間の絶食によって, *in vitro* における肝の脂酸合成では, control 群, GTG 群ともに, 14:0, 16:0への¹⁴Cとりこみ百分率の減少, 20:0 ≤ への¹⁴Cとりこみ百分率の増加がみられたが, 上記の脂酸合成経路から考察すると, 絶食により, "elongation" system よりも *de novo* 合成経路の方が抑制され易いものと考えられる。

次に, 各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率から各脂酸の合成率をみると, GTG 群の肝では, 18:1の合成が特異的に亢進していた。これは, 主として18:0→18:1のモノ不飽和化が亢進しているためと考えられる。このモノ不飽和脂酸の生成は, Block²⁸⁾は酵母において, Imai²⁹⁾はネズミ肝ミクロゾームにおいて, 分子状酸素と NADPH を要する酸素添加反応によるものであることを証明した。また, 飢餓, 糖尿病および四塩化炭素中毒における肝のモノ不飽和化能の低下が認められている。^{29) 30)} Benjamin ら²⁴⁾は, alloxan 糖尿病動物の脂肪組織において, 18:0→18:1のモノ不飽和化能が低下し, インスリン処置により是正されることを報告した。また, 高野³¹⁾は,

ラット脂肪組織において、インスリン添加により脂酸合成が亢進するが、特に18:1生成亢進にインスリンが特異的に作用することを認めている。以上の文献的考察から、GTG群の肝における18:1合成の亢進には、インスリンが重要な因子をなすものと考えられる。一方、Oshinoら²³⁾は、肝および脂肪組織のミクロゾームにおける18:0→18:1のモノ不飽和化反応に、NADH-cytochrome b₅還元酵素、NADPH-cytochrome b₅還元酵素、cytochrome b₅および青酸感受性因子が関与していることを見出しており、興味深い。

¹⁴C-acetate よりの主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ百分率において、GTG群の肝では、control群の肝に比して、in vitro ではTGへの¹⁴Cとりこみ百分率は有意に亢進していた。また、in vivo の実験においても、¹⁴C-acetate 投与後1時間目から4時間目にかけて、GTG群の肝では、TGへの¹⁴Cとりこみ百分率が増加した。

これらの成績から、GTG群の肝では、acetateよりのTG合成は亢進し、しかもTGが肝内へ貯留しやすい傾向にあると考えられる。さらに、TGの各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率の成績において、GTG群の肝では、TGの18:1の生成が亢進し、かつ18:1への¹⁴Cとりこみ百分率が継続的に増加する傾向がみられたことにより、18:1とエステル化したTGが、肝に貯留しやすいと考えられる。著者の実験では、明らかな脂肪肝をしめした動物はなかったが、伊藤²⁴⁾は脂肪肝の発生を認めている。著者の成績から考えても、脂肪肝の発生は充分期待されるところであり、従って、goldthiogluucose 肥満動物でみられる脂肪肝の病因としては、肝における脂酸合成の亢進（特に18:1生成の亢進）とTG合成の亢進が重要な要因をなすものと考えられる。

TGの合成には、fatty acyl CoAと α -glycerophosphateが必要であり、また α -glycerophosphateの量がTGの合成速度と密接な関係を有する²⁵⁾が、基質となる α -glycerophosphateはglycerolからglycerokinaseにより生成されるものと、glycolysisの中間代謝産物であるdihydroxyacetone phosphateからNAD- α -glycerophosphate dihydrogenase。

（以下 α -GPDHと略す）により生成されるものがある。永原²⁶⁾は、goldthiogluucose 肥満マウスの肝の α -GPDHを測定し、肥満マウスでは肥満初期よりミトコンドリアの α -GPDH活性が上昇し、肥満が長期におよぶと、ミトコンドリア外の α -GPDH

活性も上昇することを報告した。この成績は、goldthiogluucose 肥満マウスの肝では α -glycerophosphateの生成が亢進していることをしめし、acetateよりの脂酸合成の亢進およびTG合成の亢進を認めた著者の成績とあわせ考えると、goldthiogluucose 肥満マウスの肝では、脂酸およびglycerolの両方からのTG合成が亢進しているものと考えられる。

脂肪組織におけるin vitroの実験成績で、GTG群の脂質合成はcontrol群の約4倍に亢進していた。主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ百分率では、TGはGTG群58%、control群68%であったが、TGへの¹⁴Cとりこみ絶対値でみると、GTG群はcontrol群に比して、TGの合成が亢進していた。一方、Kasemsriら²⁷⁾は、視床下部性肥満ラットの脂肪組織において、¹⁴C-glycerolよりTGへの¹⁴Cとりこみが亢進し、glycerolよりのTG合成が亢進していることをしめし、このTG合成亢進に高インスリン血症が重要な因子として関与することを推測している。

以上の成績を総括すると、goldthiogluucose 肥満マウスにおける脂質代謝の特徴としては、肝および脂肪組織における脂酸合成の亢進（肝では特に18:1生成亢進）とTG合成の亢進があり、goldthiogluucose 肥満マウスにみられる脂肪肝および肥満の病因としては、肝および脂肪組織における、主として合成の亢進によるTGの蓄積によるものと考えられる。

第5章 結 語

goldthiogluucose 肥満マウスにおける脂酸代謝の特徴を明らかにするために、肝（in vivo, in vitro）および脂肪組織（in vitro）について、1-¹⁴C-acetateよりの総脂質、総脂酸および非けん化分画への¹⁴Cとりこみ、主要脂質分画、総脂酸の各脂酸、トリグリセライドおよびリン脂質の各脂酸への¹⁴Cとりこみ百分率を検討し、次のような成績が得られた。

1) 肝における脂酸合成は、GTG群ではcontrol群に比して、in vitro で10倍、in vivo で約2倍に亢進していた。

2) 肝におけるトリグリセライドへの¹⁴Cとりこみ百分率は、GTG群ではcontrol群に比して、in vitro で有意に増加した。一方、in vivo において、GTG群ではTGへの¹⁴Cとりこみ百分率が¹⁴C-acetate投与後1時間目から4時間目にかけて増加傾向がみられた。

3) 肝における総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率においては, GTG 群では control 群に比して, 16:0 の増加, 18:1 の増加および 20:0 以下の相対的減少がみられた。特に, GTG 群における 18:1 の増加が著明であった。

4) 肝におけるトリグリセライドの各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率では, GTG 群は control 群に比して, in vitro で 18:1 が著明に増加し, in vivo においても, ^{14}C -acetate 投与後 1 時間目から 4 時間目にかけて 18:1 が増加した。すなわち, GTG 群では, 18:1 とエステル化したトリグリセライドが肝内へ貯留しやすいと考えられた。

5) 肝におけるリン脂質の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率では, 総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率でみられたのと同様の傾向がみられた。

6) 肝における総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率におよぼす絶食の影響では, GTG 群, control

群ともに, 14:0, 16:0 の低下, 20:0 以下の増加がみられた。

7) 脂肪組織における総脂質および総脂酸の合成は, GTG 群では, control 群の約 4 倍に亢進していた。主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率および総脂酸の各脂酸への ^{14}C とりこみ百分率では, GTG 群と control 群との間に有意の差はみられなかった。

以上の成績から, goldthioglucose 肥満マウスにおける脂質代謝は, 肝および脂肪組織におけるトリグリセライドの合成亢進と, oleic acid をはじめとする各種脂酸の合成亢進により特徴づけられる。その結果, 主に oleic acid とエステル化したトリグリセライドの蓄積が肥満を惹起するものと考えられる。

尚, 本研究は第10回および第11回日本老年医学会総会, 第12回脂質生化学研究会においてその要旨を発表した。

文 献

- 1) Brecher, G. and Waxler, S. H.: Obesity in albino mice due to single injections of goldthioglucose, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* **70**:498, 1949
- 2) Marshall, N. B., Barnett, R. J. and Mayer, J.: Hypothalamic lesions in goldthioglucose injected mice, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* **90**:240, 1955
- 3) Hetherington, A. W. and Ranson, S. W.: Hypothalamic lesions and other phenomena in the rat, *Anat. Rec.* **78**:149, 1940
- 4) Bates, M. W., Zomzely, C. and Mayer, J.: Fat metabolism in three forms of experimental obesity IV. instantaneous rates of lipogenesis in vivo, *Am. J. Physiol.* **181**:187, 1955
- 5) Bates, M. W., Mayer, J. and Nauss, S. F.: Fat metabolism in the three forms of experimental obesity. fatty acid turnover, *Am. J. Physiol.* **180**:309, 1955
- 6) Soyka, L. F., Haessler, H. A. and Crawford, J. D.: Altered composition and lipolysis of adipose tissue from goldthioglucose obese mice, *Am. J. Physiol.* **217**:1088, 1969
- 7) 栗井弘二: 糖尿病の脂肪酸代謝異常—その研究法, 病型による差異および異常発生機序の考察—総合臨床, **17**:549, 1968
- 8) Folch, J., Lee, M. and Sloane Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue, *J. Biol. Chem.* **226**:497, 1957
- 9) Björntorp, P.: Polyunsaturated fatty acids in man, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **12** (Suppl. 52):1, 1960
- 10) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A.: The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis, *Anal. Chem.* **33**:363, 1961
- 11) Stoffel, W., Chu, F. and Arhens, E. H.: Analysis of long-chain fatty acids by gas-liquid chromatography, micro method for preparation of methyl esters, *Anal. Chem.* **31**:307, 1959
- 12) Bragdon, J. H.: Colorimetric determination of blood lipides, *J. Biol. Chem.* **190**:513, 1951

- 13) Haessler, H. A. and Crawford, J. D.: Alternations in the fatty acid composition of depot fat associated with obesity, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **131** : 476, 1965
- 14) Han, P. W., Fenig, L. Y. and Kuo, P. T.: Insulin sensitivity of pair-fed, hyperlipemic, hyperinsulinemic, obese-hypothalamic rats, *Am. J. Physiol.* **233** : 1206, 1972
- 15) Hales, C. N. and Kennedy, G. C.: Plasma glucose, non esterified fatty acid and insulin concentrations in hypothalamic-hyperphagic rats, *Biochem. J.* **90** : 620, 1964
- 16) Frohman, L. A., Bernardis, L. L., Schnatz, J. D. and Burek, L.: Plasma insulin and triglyceride levels after hypothalamic lesions in weanling rats, *Am. J. Physiol.* **216** : 1496, 1969
- 17) Barry, W. S. and Bray, G. A.: Plasma triglycerides in genetically obese rats, *Metabolism* **18** : 833, 1969
- 18) Müller, E. E., Minedico, D., Giustina, G., Pecile, A., Cocci, D. and Mandelli, V.: Impaired Secretion of growth hormone in goldthioglucoase-obese mice, *Endocrinology*, **89** : 56, 1971
- 19) 山内易雅: 肥満動物における脂質代謝の研究, *四国医誌*, **28** : 505, 1972
- 20) Numa, S., Bortz, W. M. and Lynen, F., in Weber, G., (Editor): *Advances in Enzyme Regulation vol III* Pergamon Press. Oxford and New York, 1965, P 407
- 21) Martin, D. B. and Vagelos, P. R.: The mechanism of tricarboxylic acid cycle regulation of fatty acid synthesis, *J. Biol. Chem.* **237** : 1787, 1962
- 22) 中西重忠, 沼正作: 遺伝性肥満マウスにおける脂肪酸合成の増加の機構について, *脂質生化学研究*, **13** : 159, 1971
- 23) 中西重忠, 岡崎武司, 橋本隆, 沼正作: 脂肪酸合成の調節機構 1. Acetyl CoA-Carboxylase の合成と分解について, *脂質生化学研究*, **12** : 15, 1970
- 24) Benjamin, W. and Gellhorn, A.: The effect of diabetes and insulin on the biosynthesis of individual fatty acid in adipose tissue, *J. Biol. Chem.* **239** : 64, 1964
- 25) Wakil, S. J.: Mechanism of fatty acid synthesis, *J. Lipid Res.* **2** : 1, 1961
- 26) Nugteren, D. H.: The enzymic chain elongation of fatty acids by rat liver microsome, *Biochim. Biophys. Acta*, **106** : 280, 1965
- 27) 伊藤朋文: 肥満時の脂肪肝に関する実験的研究, *名市大医誌*, **19** : 434, 1968
- 28) Bloomfield, D. K. and Bloch, K.: The formation of Δ^9 -unsaturated fatty acids, *J. Biol. Chem.* **235** : 337, 1960
- 29) Imai Y.: Studies on the lipogenesis in animal tissues under pathological conditions I. The formation of unsaturated fatty acid in diabetic and fasted rats, *J. Biochem.* **49** : 642, 1961
- 30) 今井陽: 脂肪酸への酸素添加反応, *最新医学*, **22** : 1630, 1967
- 31) 高野俊男: ラット脂肪組織の脂質合成におよぼす正常人血清および血清中添加インスリンの影響, *岡山医誌*, **80** : 271, 1968
- 32) Oshino, N., Imai, Y. and Sato, R.: A function of cytochrome b5 in fatty acid desaturation by rat liver microsomes, *J. Biochem.* **69** : 155, 1971
- 33) Fine, M., Michaels, G., Shan, S., Chai, Bi., Fukayama, G. and Kinsell, L.: The incorporation of ^{14}C from uniformly labeled glucose into plasma triglycerides in normal and hyperglyceridemics, *Metabolism*, **11** : 893, 1962
- 34) 永原鏡二: 肥満脂肪肝の解糖系酵素 (特に α -glycerophosphate dehydrogenase) 活性に関する実験的研究, *名市大医誌*, **19** : 1279, 1969
- 35) Kasemri, S., Bernaldis, L. L., Chlouverakis, C. and Schnatz, J. D.: The incorporation of ^{14}C -glycerol into adipose tissue lipids of weanling rats with hypothalamic obesity, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* **141** : 38, 1972

Studies on Fatty Acids Metabolism of Goldthioglucose Obese Mice

I. Fatty Acids Synthesis from 1-¹⁴C-Acetate

By

Yasuhisa Fujii

The Second Department of Internal Medicine

Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

Injection of goldthioglucose (GTG) destroys the bilateral ventro-medial nucleus, the "satiety area" and gives rise to hypothalamic obesity in mice (abbreviated later as GTG mice).

A considerable number of papers have been published on lipid metabolism of liver and adipose tissue in these obese animal. However, little is known about individual fatty acids synthesis in GTG mice.

In this report, the author disclosed the individual fatty acids synthesis of liver and adipose tissue in GTG mice.

Observations were performed both in vitro and in vivo, with analysis of the incorporation and distribution of 1-¹⁴C-acetate in individual fatty acids of major lipid classes

Results were as follows.

Experiment on liver;

1) Liver of GTG mice incorporated significantly more 1-¹⁴C-acetate in saponifiable fraction of lipids (=total fatty acids) than liver of control mice did.

2) In regard to the study on the distribution of 1-¹⁴C-acetate in individual fatty acids separated by gaschromatography, the percentage of radioactivity recovered in oleic acid significantly increased in GTG mice. On the other hand, the percentage of radioactivity in fatty acids with retention time corresponding to arachidic acid or longer relatively decreased.

3) After four hours' incubation of liver with 1-¹⁴C-acetate in vitro, the percentage distribution of radioactivity recovered in triglyceride significantly increased in GTG mice compared with control mice.

In vivo, the percentage distribution of radioactivity increased in liver triglyceride with time from one hour to four hours after administration of 1-¹⁴C-acetate in GTG mice.

4) It is conspicuous that the amount of radioactivity recovered in oleic acid of GTG mice was always significantly higher than in that of control mice, on analysis of ¹⁴C distribution in individual fatty acids esterified into triglyceride, both in vitro and in vivo.

The percentage distribution of ¹⁴C in oleic acid of triglyceride in GTG mice was increasing with time up to four hours in vivo, too.

5) In individual fatty acids esterified into phospholipids, the percentage of ¹⁴C found in oleic acid of GTG mice was also higher than in that of control mice.

6) In vitro, fasted animals incorporated less ¹⁴C into total fatty acids than fed animals in both GTG and control mice and significant decrease was observed in the percentage of ¹⁴C in myristic acid and palmitic acid.

Experiment on adipose tissue;

There was a highly significant increase in the incorporation of ^{14}C into total fatty acids in the tissue of GTG mice compared with control mice.

However, no significant differences were found in the percentage distribution of ^{14}C in major lipid classes nor in individual fatty acids of saponifiable fraction of lipids between both groups of mice.

From these results, the author advocates a possibility that obesity of these animals is due to the increased synthesis of fatty acids and increased accumulation of triglyceride esterified with oleic acid.