

# ステロイドホルモンの脂質代謝及び 糖質代謝への影響に関する研究

## 第 二 編

### ステロイドホルモンの脂質代謝 への影響に関する実験的検討

岡山大学医学部第二内科（主任：平木潔教授）

菊 池 武 久

〔昭和49年8月1日受稿〕

## 目 次

### 第一章 緒 言

### 第二章 実験方法及び材料

### 第三章 実験成績

#### 第一節 副腎皮質ホルモン負荷時に於いて 1-<sup>14</sup>C-Acetate の各種脂質及び脂酸 への取り込みに及ぼす影響について （若年マウスと老年マウス）

#### 第二節 副腎皮質ホルモン負荷時の 1-<sup>14</sup>C- Linoleate, 1-<sup>14</sup>C- $\gamma$ -Linolenate の 変換について

#### 第三節 蛋白同化ステロイドの肝及び血中脂 質に於ける脂質代謝への影響について

### 第四章 考 按

### 第五章 結 論

### 第一章 緒 言

副腎皮質ホルモンの脂質代謝への影響については、1950年 Adlersberg<sup>1)</sup> が臨床面で Cortisone の長期投与に依り高脂血症の発症を指摘し更に、1956年 Dole, Gordon, Laurell がそれぞれ血中 FFA が種々の状態により、ヌホルモンの影響によって速かに変化する事を発見して以来<sup>2), 4)</sup> ホルモンと脂質動員の関係が盛んに研究されてきた。その後1959年 Havel<sup>5)</sup>, Shafir<sup>6)</sup>, 1960年 Goodman, Knobil<sup>7), 8)</sup> による下垂体摘出イヌの cortisone 投与による FFA 増加反応、1960年 Jeanrenaud と Renold<sup>9)</sup> はラット脂肪組織に cortisol 又は corticosterone を in vitro で添加し FFA の放出増加、1962年 Fain<sup>10)</sup> に依る副腎摘出ラット脂肪組織の in vitro で glucocorticoid 投与で FFA 放出増加並びにそれに関連して1962年 Leboeuf<sup>11)</sup> ら、1963年 Fain<sup>12)</sup> 1964年 Weiges<sup>13)</sup> 1963年、1965年葛谷<sup>14), 15)</sup> は糖利用を副腎皮質ホルモンが抑制する事を認めている。1965年高橋<sup>16)</sup>

は Glucocorticoid による Overproduction Hyperlipemia（肝に於ける中性脂肪の合成と血中への放出が促進）を指摘し、1966年野田<sup>17)</sup> も同様に家兔で、Glucocorticoid は脂肪酸動員作用殊に Hypertriglyceridemia を惹起する事を認めた。又 Bate<sup>18)</sup> は in vivo で副腎摘出ラット肝における acetate 或いは glucose からの脂肪酸合成が低下する事を示し、一方 Perry, Brown Najad, Chaikoff は in vitro 実験で同様の事を証明している。又当教室の栗井<sup>19)</sup> は、1970年全血に Glucocorticoid を添加し、in vitro で 1-<sup>14</sup>C-Acetate の総脂肪への取込みの低下、C14 : 0, C16 : 0 への取込みの低下、C18 : 0, C18 : 1 への取込みの上昇を認めている。然るにステロイド糖尿病状態の 1) Acetate よりの脂質合成、2) 必須脂肪酸の変換、3) 蛋白同化ホルモン投与下の Acetate よりの脂質合成については充分に解明されてない。著者は第一編のステロイド糖尿病の臨床統計に関連して、此の編ではステロイドホルモン及び Anabolic Hormon の脂質代謝に及ぼす影響を

検討した成績について報告する。

## 第二章 実験方法及び材料

第一節 副腎皮質ホルモン負荷時に於て  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetate の各種脂質及び脂肪酸への取り込みに及ぼす影響について (若年マウスと老年マウス)

ICR 系雄性マウスの若年群 (生後 2~3 ヶ月) 老年群 (生後 1 年) 2 群にオリエンタル固型飼料 (マウスラット飼育用) と水とで飼育し, Dexamethasone  $0.04\text{mg/day}$  即ち  $1.33\text{mg/kg}$  腎筋に連日注射する。注射前を対照群とし, 5 日目, 10 日目の各時期の血清脂質 (総脂肪, 中性脂肪, 燐脂質, ユレステロール), 空腹時血糖, 体重を測定し, 同時に各時期に  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetate  $10\mu\text{Ci}$  を腹腔内に注射し 15 分後に眼窩静脈より出来るだけ採血し, 脱血死させ, その後開腹し肝臓を摘出した。それぞれについて末梢血脂質 (1 ml 当りでの総脂質への  $^{14}\text{C}$  取り込み) 及び肝脂質 (1 g 当りでの Total Lipid への  $^{14}\text{C}$  取り込み) の放射活性又は総脂質, 中性脂肪, 燐脂質の脂肪酸への  $^{14}\text{C}$  取り込み百分率の各時期に於ける比較をした。尚, 脂質の処理方法は肝, 末梢血より Folch<sup>19)</sup> にもとづき脂質抽出し, 一部はそのまま鹼化し非鹼化物 (主としてコレステロール) を分離し, 総脂肪酸を抽出する。Metcalf<sup>20)</sup> の方法でエステル化しガスクロマトグラフィーの資料にする。また脂質の大部分は薄層クロマトグラフィーにて主要脂質に分ちそのおのおのをかきとり, 脂肪酸を有する部分は Stoffel の方法にて<sup>21)</sup> 塩酸メタノールでエステル化し, ガスクロマトグラフィーの材料とした。これらは熱伝導検知器付ガスクロマトグラフィーで各脂肪酸に分取し, そのおのおのへの  $^{14}\text{C}$  取り込みを液体シンチレーションカウンター (島津 LSG II) にて測定した。又各種血中脂質値の測定方法は, Total Lipid は Bragdon 法, Triglyceride は Van Handel-春日氏変法, phospholipid は H. Haury 法, cholesterol は Zak-Henly 変法, NEFA は Itaya, Ui 法で血糖は Autoanalyser 法で測定した。

第二節 副腎皮質ホルモン負荷時の  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Linoleate,  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate の変換について

$1\text{-}^{14}\text{C}$ -Linoleate  $10\mu\text{Ci}$  及び  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate  $10\mu\text{Ci}$  をそれぞれ人血清アルブミンと混合し  $55^\circ\text{C}$ , 30 分間振盪混合して前項で述べた若年マウスの三群に腹腔内に注射した。  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Linoleate の場

合は 1 時間後,  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate は 30 分後に眼窩静脈より採血した上, これら各群にて前述の解析を行った。

第三節 蛋白同化ステロイドの肝及び血中脂質に於ける脂質代謝の影響について

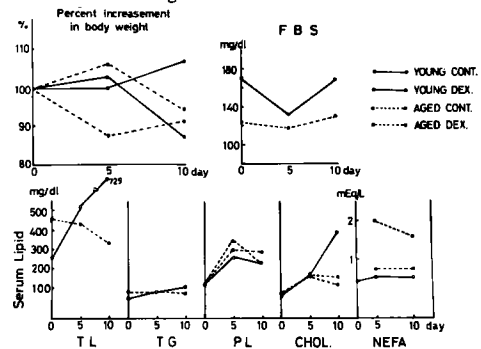
前記の若年マウスについて, 1 群は対照として Oxandrolone 基剤である CMC を経口投与し, 2 群として Oxandrolone  $0.2\%$  液  $0.06\text{cc}$  ( $4\text{mg/kg}$ ) 経口投与, 3 群として Dexamethasone  $0.04\text{mg/day}$  即ち  $1.33\text{mg/kg}$  筋注, 4 群として Oxandrolone 経口投与と同時に Dexamethasone 筋注  $0.04\text{mg/day}$  (Dex. + Oxan.) の 4 群について 5 日目及び 10 日目に第一節同様の検討をした。

## 第三章 実験成績

第一節 副腎皮質ホルモン負荷時に於いて  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetate の各種脂質及び脂肪酸への取り込みに及ぼす影響について (若年マウスと老年マウス)

1) Dexamethasone 投与による体重, 血糖及び各種血清脂質変動 (Fig 1) Dexamethasone (以下 Dex. と略す) 負荷前, 負荷 5 日目, 10 日目の各変

図1 Effect of Dexamethasone in young and aged Mouse

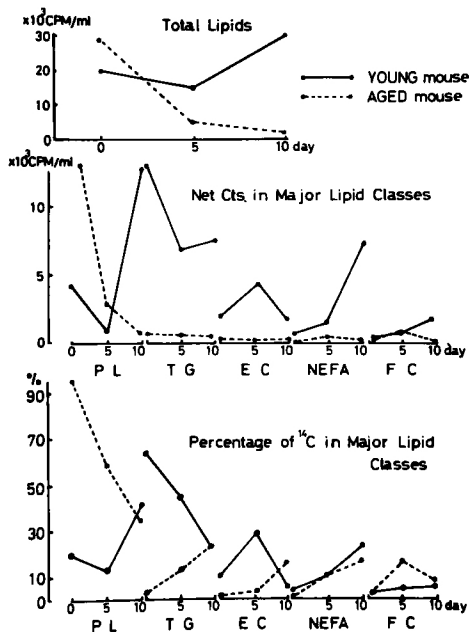


化は体重増減率では, 若老群共に 10 日目で減少傾向を認め, 空腹時血糖は, 5 日目より 10 日目に上昇の傾向を示した。しかし尿糖は出現しなかった。血清脂質では Total lipid (以下 TL と略す) は若年 Dex 群に於いては著明に上昇するが, 老年 Dex 群ではやゝ減少の傾向が見られた。Triglyceride (以下 TG と略す) は余り変化なく, Phospholipids (以下 PL と略す) は若老群共に上昇を示し, 10 日目で減少を示す。Cholesterol (以下 Chol と略す) は若

Dex 群が5, 10日目と上昇を示した。又遊離脂肪酸(以下 NEFA と略す)は有意の差は見られない。

2)  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate  $10\mu\text{Ci}$  腹腔内投与15分後の末梢血 1 ml 中の総脂質放射活性並びに各脂質分画中放射活性百分率の経時的変動 (Fig 2) TL の放射活性

図2 Time Course of Radioactivities in Blood

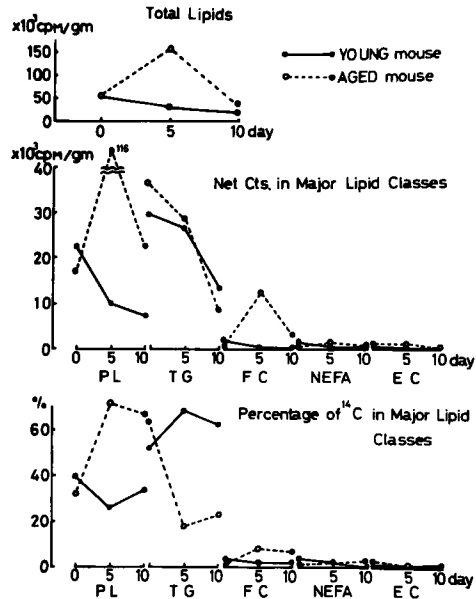


は若老群共に5日で低下し, 10日では若年群は Control ( $20.4 \times 10^3 \text{ CPM/ml}$ ) より増加するのに比べ, 老年群は日数と共に低下する。10日目の末梢血 TL を薄層クロマトグラフィーで PL, TG, Ester Cholesterol (以下 EC と略す), NEFA, Free Cholesterol (以下 FC と略す) に分離し, 各脂質分画への<sup>14</sup>C取り込みを百分率でみると若年群が PL (41.4%) 上昇, TG (24.3%) 低下, NEFA (23.2%), FC (5.3%) 軽度上昇に比べ老年群では PL (34.8%) 低下, TG (23.8%) 上昇と逆の変化を示した。NEFA, FC, Chol は共に若年群と同様である。これを Net count で示すと若年群では PL の上昇, TG の低下, NEFA の上昇, 老年群では PL の著減とその他は低値で変化を示さない。

3)  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate  $10\mu\text{Ci}$  腹腔内投与15分後の肝 1 g の総脂質放射活性並びに各脂質分画への<sup>14</sup>C取り込み百分率の経時的変動 (若年マウスと老年マウス)

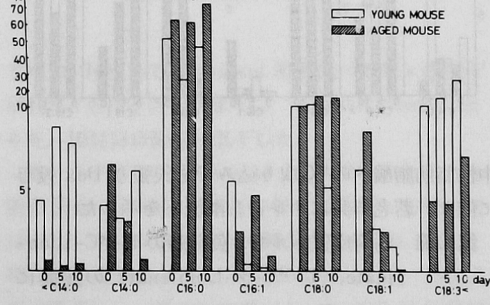
(Fig 3) TL の放射活性は若年群では軽度なが

図3 Time Course of Radioactivities in Liver



ら5, 10日目では低下するのに比べ老年群では5日で上昇, 10日では低下して若年群と近値を示す。10日目の各脂質分画<sup>14</sup>C百分率は若年群で PL (33.2%) 低下, TG (62.2%) 上昇, FC (2.0%), NEFA (0.9%) 低下を示すのに対し, 老年群では PL (66.9%) 増加, TG (22.7%) 減少を示す。Net count でみるといずれの群でも10日で PL, TG 共著しく低下する。肝と末梢血に於ける各脂質分画百分率の比較は, 特に PL と TG に於いては若年群と老年群で増減の態度が逆であり, 一方末梢血と肝では若年, 老年群共殆んど脂質で負の相関を示した。

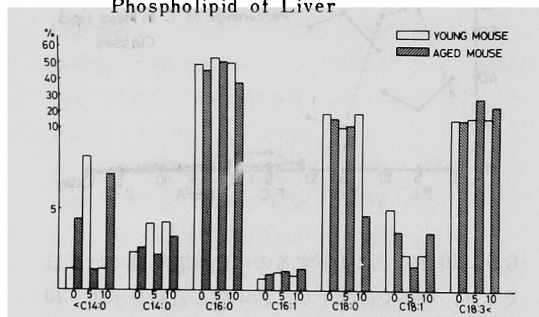
図4 Percentage of <sup>14</sup>C Incorporation into Total Fatty Acid of Liver



4) 肝総脂酸の各脂酸への $^{14}\text{C}$ 取り込み百分率 (Fig 4) 此の図は control, Dex 投与5日目, 10日目に於ける肝の総脂酸への $^{14}\text{C}$ 取り込みについてみたものであり, 若年群はミリスチン酸 ( $\text{C}_{14}:0$ ) 及びそれ以下の脂酸への取り込みは増加し, パルミトオレイン ( $\text{C}_{16}:1$ ) 及びオレイン酸 ( $\text{C}_{18}:1$ ) は低下する。老年群では5日目, 10日目に於いて老 control 群と比べミリスチン酸及びオレイン酸は低下する。若老群の経時的变化の傾向は, ミリスチン, パルミチン酸で僅かに差異を認めた。Dex 投与に依って若老群共にオレイン酸への $^{14}\text{C}$ 取り込み低下が共通の現象として見られた。

5) 肝磷脂質への $^{14}\text{C}$ 取り込み百分率 (Fig 5)

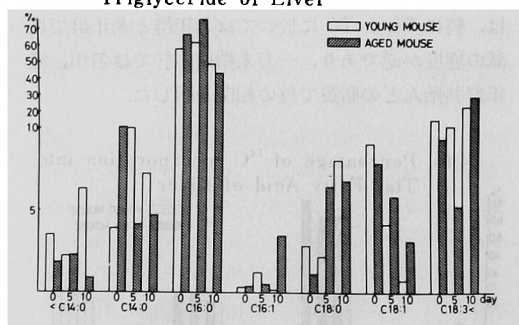
図5 Percentage of  $^{14}\text{C}$  Incorporation into Phospholipid of Liver



磷脂質脂酸への $^{14}\text{C}$ 取り込みは, Dex 投与に依り, ミリスチン酸以下は増加で, オレイン酸低下が見られた。

6) 肝中性脂肪への $^{14}\text{C}$ 取り込み百分率 (Fig 6)

図6 Percentage of  $^{14}\text{C}$  Incorporation into Triglyceride of Liver

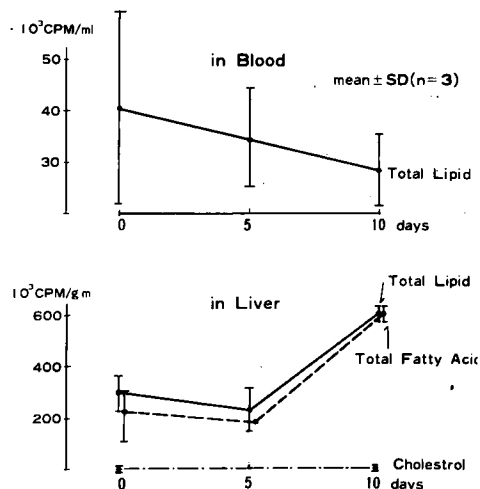


中性脂肪脂酸への $^{14}\text{C}$ 取り込みでも矢張り Dex 投与に依り, 若老群共にオレイン酸低下を示した。

第二節 副腎皮質ホルモン負荷時の  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate,  $1-^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate の変換について

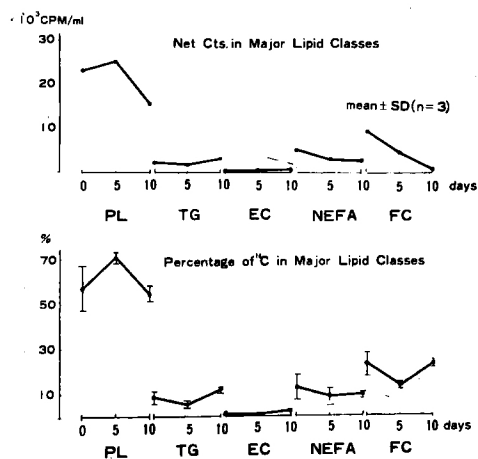
1)  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate  $10\mu\text{Ci}$  腹腔内投与1時間後の末梢血1mlと肝1gの総脂質放射活性の経時的变化 (Fig 7) 末梢血では Dex 負荷と共に  $1-^{14}\text{C}$ -

図7 Time Course of Radioactivities recovered in Blood and Liver (1hr. after  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate i.p. injected)



Linoleate よりの $^{14}\text{C}$ の TL への取り込みは, 5, 10日目で低下する傾向に対し, 肝では TL, Total Fatty Acid (以下 TFA) 共に5日ではやゝ低下し, 10日目で倍になる。肝の Chol では, 5, 10日目の $^{14}\text{C}$ 取り込みに変化は認められない。

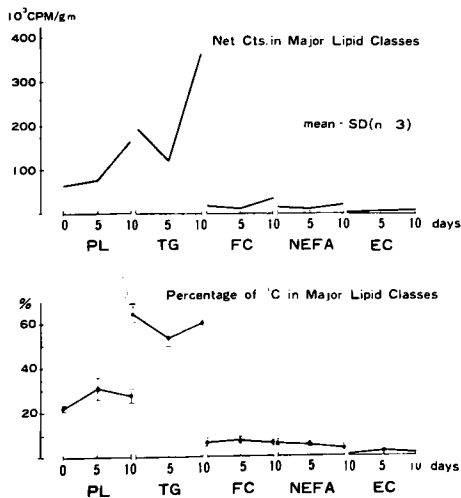
図8 Time course of Radioactivities in Blood ( $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate)



2)  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate よりの末梢血各脂質分画へ  $^{14}\text{C}$  取り込み百分率の経時的変動 (Fig 8) 末梢血より得た脂質を薄層クロマトグラフィーで分離すると、主要脂質分画への  $^{14}\text{C}$  取り込み百分率は、PL で対照が60%であるのに対し、Dex 投与5日目に PL への取り込みがやや増加し、FC では5日で低下、10日目で PL、FC 共に control 群と同様の百分率を示すが、それぞれ Net count では PL、FC、NEFA の順で取り込まれ、Dex 投与と共に低下の傾向にある。

3)  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate よりの肝各脂質分画への  $^{14}\text{C}$  取り込み百分率の経時的変動 (Fig 9) TG では65

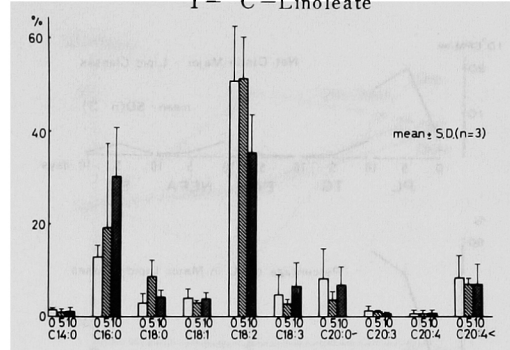
図9 Time Course of Radioactivities in Liver( $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate)



%, PL 20% 取り込まれ、TG では5日目に低下、10日目に Control 群に近づき、PL では5、10日共に増加した。脂質分画 Net count では TG、PL の順に取り込まれ、10日目で増加の傾向を示した。

4)  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate よりの  $^{14}\text{C}$  の肝各脂肪酸への変換について (Fig10) Control 群では全脂肪酸の放射活性のうち、リノール酸 (C18:2) から全体の50%を得たのに対し、Dex 投与10日では35%に減少する。即ち  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate はマウスに注射後より長鎖の脂肪酸へ変換すると同時に酸化分解される。一方分解されたものが再び脂肪酸へ合成されるので各種の脂肪酸から放射活性を回収する事が出来る。γリノレン酸以上の脂肪酸では5日目で何れも低率となる。10日目はγリノレン酸以上は対照と

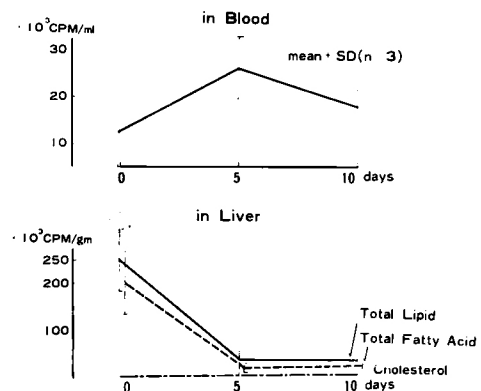
図10 Percentage of  $^{14}\text{C}$  Incorporation into Total Fatty Acid of liver from  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate



ほぼ同率であるが、パルミチン酸 (C16:0) への取り込みは増加する。

5)  $1-^{14}\text{C}$ -γ-Linolenate  $10\mu\text{Ci}$  腹腔内30分後の末梢血 1 ml と肝 1 g の総脂質放射活性の経時的変動 (Fig11) 末梢血 1 ml でみると Dex 負荷 5 日目

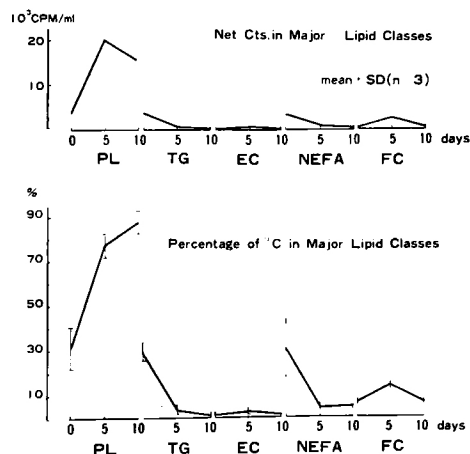
図11 Time Course of Radioactivities recovered in Blood and Liver (30min. after  $1-^{14}\text{C}$ -γ-Linolenate)



で増加、10日目でも control 群と比べてやや増加を示した。肝 1 g 当りでは TL、TFA 共に Control より 5、10日目は極端に低下した。

6)  $1-^{14}\text{C}$ -γ-Linolenate よりの  $^{14}\text{C}$  の末梢血各脂質分画への取り込み百分率 (Fig12) 末梢血では PL、TG、NEFA が各々30%を占め、PL では5、10日目で増加し、TG、NEFA では共に5、10日目に共に低下し、一方これを Net count でみても同様

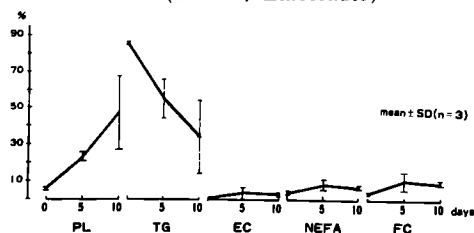
図12 Time Course of Radioactivities in Blood ( $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate)



の結果であった。

7)  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate の $^{14}\text{C}$ の肝各脂質分画への取り込み百分率の経時的変動 (Fig13) 同様

図13 Time course of Radioactivities in Liver (Percentage of  $^{14}\text{C}$  in Major Lipid Classes) ( $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate)

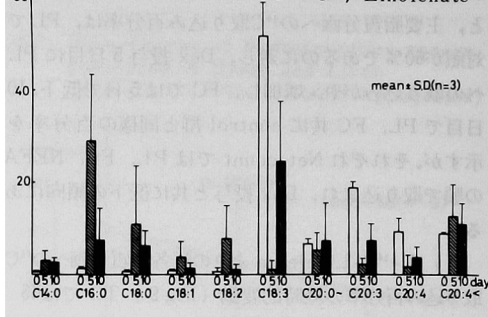


に肝ではTGへの取り込みが85%を占め、5、10日目と低下しPLではControl群に比べて5、10日目と増加した。

8)  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate よりの $^{14}\text{C}$ の肝各脂肪酸への変換について (Fig14) 3群を比較すると、Control群では $\gamma$ -リノレン酸として残っているものは、52%でその他は何れもより長鎖の脂肪酸から回収されるが、Dex 5日投与群では $\gamma$ -リノレン酸は殆んどなく、アラキドン酸 ( $\text{C}20:4$ ) より長鎖のものに僅か見られる他は、より短鎖の側での放射活性が増す、又10日目群ではControlに近づく。

9) 主要脂肪酸への  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Linoleate,  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -

図14 Percentage of  $^{14}\text{C}$  Incorporation into Total Fatty Acid of Liver from  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate



Linolenate よりのC取り込みについて (Table 1) 主要脂肪酸からの $^{14}\text{C}$ 回収百分率を投与脂肪酸の残存している百分率で除したものを大まかに変換率と見ると、リノール酸ではDex 5日目ではControlに比べて、リノール酸より短鎖のミリスチン酸とパルミチン酸へは、0.39変換し、それに反して $\gamma$ -リノレン酸以上へはほぼ同等の割合だけ変換の低下が見られる。10日目では短鎖の方へ益々変換され長鎖へを同様に増加

表1 Ratio of Conversion from  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Linoleate and  $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate to major Fatty Acid

|                                            | $\text{C}14:0 + \text{C}16:0$<br>/ $\text{C}18:2$ | $\text{C}18:3 \leq$<br>/ $\text{C}18:2$ |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Control                                    | 0.24                                              | 0.45                                    |
| $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Lino-<br>leate 5 | 0.39                                              | 0.29                                    |
| 10                                         | 0.88                                              | 0.61                                    |

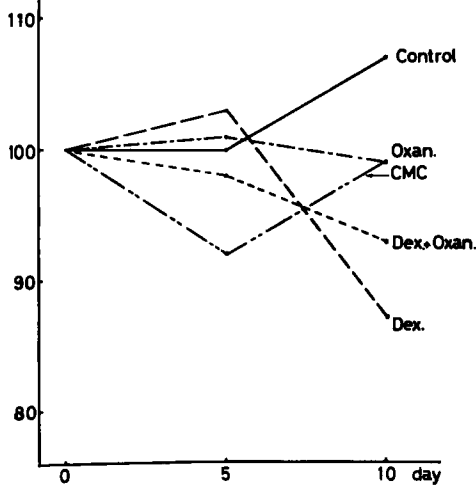
|                                                       | $\text{C}14:0 + \text{C}16:0$<br>/ $\text{C}18:3$ | $\text{C}20:3 \leq$<br>/ $\text{C}18:3$ |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Control                                               | 0.03                                              | 0.72                                    |
| $1\text{-}^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -L-<br>inoleate 5 | 28.23                                             | 14.92                                   |
| 10                                                    | 0.40                                              | 0.91                                    |

した。 $\gamma$ -リノレン酸の変換はControlでは主に長鎖脂肪酸に変換されホモ- $\gamma$ -リノレン酸以上に0.72、5日目ではミリスチン酸とパルミチン酸に対しては28.23、ホモ- $\gamma$ -リノレン酸以上に対しては14.92と変換され、 $\gamma$ -リノレン酸として残存しない、10日目では再びControlの状態に近づく傾向を示した。

第三節 蛋白同化ステロイドの肝及び血中脂質に於ける脂質代謝への影響について

1) 体重変動の経過 (Fig15) Dex 群が10日

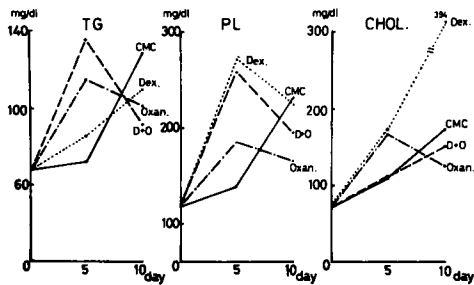
図15 Relative Changes of Body weight in various condition



低下するのに比べ Dex+Oxa 併用の方が体重低下は抑制される。Oxa 単独群では予期に反してこの期間の間で、Control に比べ上昇を示さない。

2) 血清脂質値の推移 (Fig16) Dex 群が TG,

図16 Time Course of Major Serum Lipid

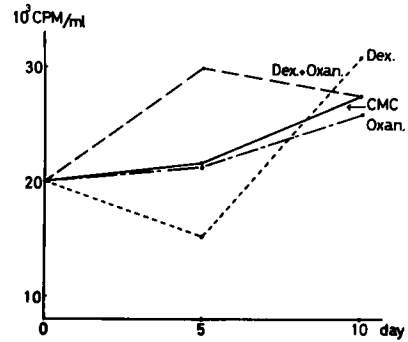


PL, Chol 共に高値を示すが、この四群の比較では Oxa 群, Dex+Oxa 群が共に 5 日より 10 日にかけて TG が下降値を示し、Oxa 群のみが 5 日より 10 日にかけて Chol が下降値を示した。

3)  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate  $10\mu\text{Ci}$  腹腔内投与 15 分後の末梢血 1 ml 中の総脂質放射活性 (Fig17) Dex+Oxa 群は 5 日目で増加し 10 日目で少々減少する。又 Dex 群では 10 日目に増加傾向を示す。先に示した血清脂質での TG 及び PL の変動と平行する点が興味深い。

4) 肝 1 g 当りに  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate より Total Li-

図17 Radioactivities recovered from Total Lipids of 1ml Whole Blood at 0, 5 and 10 days under various conditions



pid, Fatty Acid, Cholesterol へ取り込まれた放射活性 (Table 2) Dex 群が TL, Fatty Acid (以

表 2  $^{14}\text{C}$  recoverd from Fatty Acids and Cholesterol of Livers in various conditions

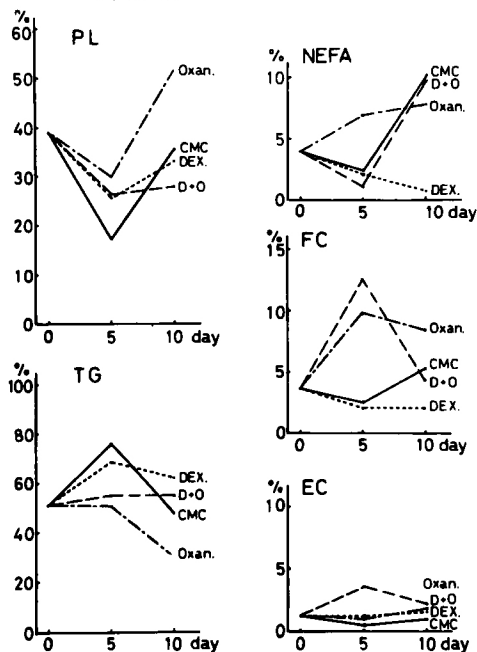
|           | Total Lipid |         | Fatty Acid |         | Cholesterol |         |
|-----------|-------------|---------|------------|---------|-------------|---------|
|           | 5 days      | 10 days | 5 days     | 10 days | 5 days      | 10 days |
| Control   | 57.4        |         | 15.4       |         | 5.9         |         |
| CMC       | 24.4        | 26.7    | 7.3        | 27.9    | 0.8         | 2.2     |
| Dex.      | 38.2        | 21.9    | 26.5       | 11.3    | 8.1         | 0.7     |
| Oxa.      | 33.4        | 33.1    | 13.1       | 15.5    | 1.3         | 6.1     |
| Dex.+Oxa. | 34.8        | 66.9    | 25.4       | 57.9    | 1.3         | 1.3     |

+  $10^3$  CPM/g Liver

下 FA と略す), Chol 共に 5 日目から 10 日目にかけて取り込み低下をみる。Oxa 群は TL 低下, FA は変化なく, Chol では 5 日目で著明に低下し, 10 日目になると Control に近づいた。又 Dex+Oxa 群では 5 日から 10 日にかけて FA への取り込みが増加傾向を示した。

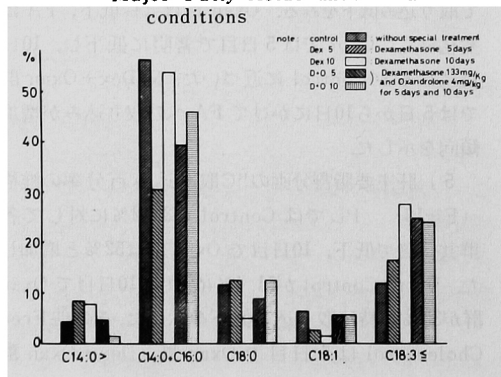
5) 肝主要脂質分画の  $^{14}\text{C}$  取り込み百分率の推移 (Fig18) PL では Control が 39.2% に対して各群共 5 日で低下, 10 日目で Oxa 群は 52% と増加した。TG は Control が 51.4% に対して 10 日目で Oxa 群が 30% と特に取り込み低下を示した。その他 Free Cholesterol は 5 日目で Oxa 群, Dex+Oxa 群

図18 Time Course of Percentage of  $^{14}\text{C}$  recovered in Major Lipid Classes of Liver



共に取り込み促進したが、10日で抑制の像を示した。Dex 群と Dex+Oxan 群を比較すると Dex 群で TG 取り込みが Control に比べて促進しているのに対して Oxan を併用する事に依って Dex. で増加した TG の百分率が低下する傾向を認めた。

図19 Percent Incorporation of  $^{14}\text{C}$  into Major Fatty Acids under some conditions



6) 肝主要脂肪酸への $^{14}\text{C}$ 取り込み百分率 (Fig19) Dex 群と Dex+Oxan 併用群の5, 10日目を比較すると後者でミスチン酸以下, ステアリン酸, オレイン酸の取り込み百分率が Control に近づく傾向を示した。

#### 第四章 考 按

Dexamethasone に依る体重減少は10日目に於て若老マウス共に見られるが、これは蛋白異化作用並びに解糖系障害に依る脂肪組織よりの FFA 放出の影響と思われる。空腹時血糖は、10日目頃より上昇の反応が見られ、これは、1940年 Ingle<sup>22)</sup>が高血糖を来す事を報告して以来認められている事である。血清脂質に関しては若年マウスに於いては TL の上昇特に Chol の10日目の上昇、又5, 10日目へかけての PL の軽度上昇が見られた。1950年 Adlersberg<sup>1)</sup>が臨床的に Cortisone 負荷で此の者の脂質のみに上昇を認める事を報告している。著者は第一編のステロイド糖尿病の臨床統計に於いても、ステロイド糖尿病発症時に平均して Chol は $245 \pm 82.3$  (n=18) mg/dl と上昇を認めた。その原因として Chol の肝での生合成促進、異化抑制、胆管よりの腸内へ排泄された Chol の再吸収促進等が考えられるが、此の詳細な機序については従来の動物実験成績からは直ちに結論を求める事は出来ない。Dex 負荷に依り脂肪組織よりの NEFA 遊離増加が促進されたためかと考えられるが、Aged Dex 群のみに高値を示したのは興味深い。

1958年 Pastore et al<sup>23)</sup>並びに1959年 James et al<sup>24)</sup>が人白血球、全血が Acetate を前駆物質として脂質合成を行う事を報告して以来、当教室では木畑ら<sup>25) 26)</sup>は動脈硬化症、高脂血症に於いて血液細胞が脂質合成、脂肪酸合成或いは分解を積極的に行っている事を明らかにした。依って著者は脂質代謝の中心を占める血液細胞の反映する全血と肝に於いて若年及び老年マウスに Dexamethasone 負荷し、 $1-^{14}\text{C}$ -Acetate 腹腔内投与15分後の末梢血、肝主要脂質分画並びに肝の総脂質、磷脂質、中性脂肪脂肪酸への取り込みを比較検討した。若年マウスでは  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate 投与により全血の TL に回収される $^{14}\text{C}$ は Fig 2 の如く10日目には増加し、それに反して肝での取り込みは抑制される。即ちこの時点では肝での合成が低下するのか、肝での合成により生成した脂質が素早く血中へ出るのが、或いは更に血液細胞の脂質合成が盛んであることを思わせる。そし

てその場合全血と肝の脂質合成の態度は負の相関があるといえる。次に脂質分画を全血と肝で Net count で比較すると先づ全血で若年マウス Control (Dex 負荷前) (Fig 2~3) は, TG, PL, エステルコレステロール (以下 EC と略す) の順に合成され, 10 日目では PL の増加, TG の低下, NEFA の増加の順になるのに反し, 肝では負荷前 TG, PL の合成が大半を占め, 10 日目でも共に合成低下し, TL の合成で全血と肝で負の相関を示した如く, 脂質分画でも肝の合成は抑制された。老年マウス (Fig 2~3) では, Dex 負荷前の全血の脂質分画 Net count で PL 分画のみが主に取り込まれ, 10 日目では PL 分画は他の脂質の分画と同様に取込みは低下, 肝での脂質分画 Net count (Dex 負荷前) では TG, PL が主に取り込まれ, 特に PL が 5 日目に著増した現象は Fig 3 に見られる TL 合成の増加又は Fig 1 に見られる 5 日目 PL の老年マウスの増加 (血中へ放出) と併せ考え興味深い。以上若年, 老年マウスに於ける肝脂質分画へ TG と PL が大部分占めている状態は木畑ら<sup>26)</sup>も Control 又は goldthio glucose treated mouse にて認めている。

肝総脂肪酸, 燐脂質脂酸, 中性脂酸への  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate よりの $^{14}\text{C}$ 取り込み百分率 (Fig 4~6) に於ては, 総脂肪酸合成 pattern (Fig 4) で若年マウスでは  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C16: } 1 \downarrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$ , 老年マウスでは  $\text{C14: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$ , Dex 負荷で共通して言える事は, オレイン酸合成低下に代って  $\gamma$  リノレン酸以上の長鎖脂肪酸の合成増加を思わせる。後の  $\text{C14: } 0$  以下の変化は若年と老年との差と思われる。以上より特に著明な変化はオレイン酸であって各脂肪酸 pattern 共に Dex 負荷で若年, 老年マウス共通して合成低下即ちモノ不飽和化が極端に抑制されている。尚モノ不飽和脂肪酸の生成には好氣的と嫌氣的があり, 哺乳動物肝ではモノ不飽和脂肪酸の生成は相当する飽和脂肪酸 (ステアリン酸) より好氣的に行なわれる。今井<sup>27)</sup>は肝ミクロゾームに酵母と類似する Stearyl-CoA 不飽和酵素の存在を見出し, この酵素活性は飢餓や糖尿病に依って低下し, refeeding で活性の上昇が見られるなど顕著な代謝調節を受ける事を報告している。故に此の場合 Steroid 糖尿病状態に於いても酵素活性が低下し, モノ不飽和化が障害されたと推測出来る。燐脂質へエステル化した合成脂肪酸 pattern (Fig 5) では, 若年マウスでは  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$ , 老年マウスでは  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 0 \downarrow$ ,

$\text{C18: } 1 \downarrow \sim \uparrow$ ,  $\text{C18: } 3 \downarrow \uparrow$  で共通な変化は, オレイン酸の低下傾向に反応してミリスチン酸の増加傾向が考えられる。中性脂肪へエステル化した合成脂肪酸 pattern (Fig 6) では若年マウスで  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C14: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C16: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C18: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$ , 老年マウスでは  $\text{C14: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C14: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C16: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C16: } 1 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$  で共通な変化は  $\text{C16: } 0 \downarrow$ ,  $\text{C18: } 0 \uparrow$ ,  $\text{C18: } 1 \downarrow$  いわゆる malonyl CoA 経路の低下, モノ不飽和化の抑制である。以上 Steroid 負荷時の肝総脂肪酸のオレイン酸取り込み低下は, 木畑ら<sup>26)</sup>の報告する動脈硬化症の血液細胞或いは肥満, 高脂血症の血小板の in vitro に於ける  $1-^{14}\text{C}$ -Acetate よりの取り込みでオレイン酸合成増加とは全く逆の成績である。即ちオレイン酸合成は種々の状態に於いて極めて変化をうけ易い, 従って代謝の動向を知る上に重要な立場にあるものと思われる。

ステロイド負荷時に必須脂肪酸といわれるリノール酸,  $\gamma$  リノレン酸の変換がどの様な態度をとるかは興味深い。リノール酸系脂肪酸の代謝経路としてはリノール酸は次の様な経路で他の酸に変化する<sup>28) 29)</sup>。  
 $18: 2 \omega 6 \rightarrow 18: 3 \omega 6 \rightarrow 20: 3 \omega 6 \rightarrow 20: 4 \omega 6$   
 $\xrightarrow{22} 22: 4 \omega 6 \xrightarrow{20} 22: 5 \omega 6$  更に  $18: 2 \omega 6 \rightleftharpoons 20: 2 \omega 6 \rightarrow 20: 3 \omega 6$  という経路も証明されている。<sup>30)</sup>  $\omega 6$  系脂肪酸の変換については, Friedman ら<sup>31)</sup>はラットに in vivo に  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleic Acid を注入した実験から, アロキサンラットの肝及び肺における  $\text{C20: } 4$  の生成は著明に低下する事を指摘し, Mercuri<sup>32)</sup>も alloxan rat 肝 microsome の  $18: 2 \omega 6 \rightarrow 18: 3 \omega 6$  の変換の低下と, Insulin による回復をみている。また rat のエチオニン並びにアルコール障害肝に於いても深沢ら<sup>34)</sup>は  $18: 2 \omega 6$  の  $20: 4 \omega 6$  への変換障害の強い事を認めている。必須脂肪酸の代謝並びに変換に関しては, ビタミン, コレステロールそしてホルモン (性ホルモン, インシュリン, 甲状腺ホルモン) などが影響を及ぼすとされているが今回は Steroid Hormon (Dexamethasone) に依る  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate ( $18: 2 \omega 6$ ),  $1-^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Linolenate ( $18: 3 \omega 6$ ) の影響を見た。  $1-^{14}\text{C}$ -Linoleate 腹腔内投与 1 時間後の末梢血への TL 放射活性は 10 日目で Steroid 負荷で低下し, 逆に肝では増加した。末梢血の $^{14}\text{C}$ 標識脂肪酸のエステル化率は, PL, FC の順で Steroid 負荷で低下する。肝では TG, PL の順にエステル化され, 10 日目で TG は上昇する。以上は当教室の藤井ら<sup>34)</sup>の Goldthiogluco-

肥満 CBA mice を使用し、リノール酸、 $\gamma$ リノレン酸24時間腹腔内投与後の肝のエステル化率とほぼ同様の所見が得られた。一方リノール酸の変換では著明な変化はリノール酸自体が10日目で Control 50% に対して35%に減少し、パルミチン酸は11%より30%に増加した。此の事は Steroid に依る malonyl-CoA pathway 亢進を考慮される。 $\gamma$ リノレン酸の変換は Steroid 5日目で一旦低下し、10日目には亢進、ミリスチン酸とパルミチン酸へは共に亢進、言い換えれば10日目には malonyl CoA pathway, elongation が盛んで Fatty Acid Cycle より Acetyl CoA までの酸化分解が亢進している事と思われる。以上変換については観察方法、条件、動物の種類、アイソトープの量によって非常に影響されるので次の $\gamma$ リノレン酸でも同じ事が考慮される。1- $^{14}$ C- $\gamma$ リノレン酸腹腔内投与30分後の末梢血総脂質放射活性は上昇の傾向を示し、肝では反対に明らかに減少した。これは明らかに逆相関である。末梢血の $^{14}$ C 標識脂酸のエステル化率は PL, TG で Dex 負荷で PL のみ増加した。肝では TG が90%近く占め Dex 負荷で PL の上昇, TG の低下を来した。 $\gamma$ -リノレン酸より長鎖、短鎖の変換ではリノール酸の変換の pattern と異なり、Control では C20:3  $\leq$  へ高率に変換され、C14:0 + C16:0 へは殆んど変換されてない。しかし Dex 負荷5日目になると $\gamma$ リノレン酸には1.1%しか残存しなくて、C20:3  $\leq$  へは特に C20:4 < への変化が著明で一方、C14:0 + C16:0 への変化も強くみられた。又 C18:0 や C18:2 も変化する。依ってどの pathway へも変換が盛んである。次に10日目になると C18:3 には24.6%残り、再び Control の変換に近づく様な傾向を示した。

蛋白同化ステロイドはその構造、機能上 testosterone と estrogen の中間型というべき作用を有しているで、脂質代謝に及ぼす影響が注目されていた訳であるが、これまでの成績では methandrostenolone をはじめ各種蛋白同化ステロイドはいずれも著明な血中 cholesterol 低下作用を示している。その機序として吉利ら<sup>35)</sup>は肝に於ける Chol 生合成に及ぼす蛋白同化ステロイドの効果を雄ラットを用い検討し、Oxymetholone 1mg/100g 体重を皮下注射し、 $^{14}$ C-mevalonate 投与1時間後の肝コレステロールへの取り込みは著明に低下する事を認め、特に初期の段階で生合成が抑制される事を指摘した。又総胆管にポリエチレン管を挿入したラットを用い $^{14}$ C-cholesterol 静注時の胆汁内 $^{14}$ Cを示標に蛋白同

化ステロイド投与の効果を検討し、胆汁中へコレステロール排泄促進効果を有する事を認めた。以上二点が蛋白同化ステロイドの血清脂質改善作用と認められているが、依って著者は副腎皮質ホルモンを IRI mouse に併用し、その際の体重、血清脂質、1- $^{14}$ C-Acetate よりの血中並びに肝脂質への合成態度を考察した。種々の条件下に於ける体重の時間的推移は Control 群が増加するのに対し各群共に減少の傾向であるが、Dexamethasone が蛋白異化作用を示す事に対して蛋白の生合成或いは異化の抑制をもたらす蛋白同化ステロイドを併用する事により、体重減少を減少を抑制する方向に働いた事が推測される。血清脂質 (TG, PL, Chol) の比較では、Dex 群に依る高脂血症状態を特に TG, PL に於いては5日より10日目に抑制し得た。又 Chol の増加は10日間を通じて抑制の pattern を示した。Oxan 単独使用でも以上とほぼ同様に5日目より10日目に Chol を低下する傾向が見られた。各4群 (CMC, Dex, Dex+Oxan, Oxan) に於ける 1- $^{14}$ C-Acetate より末梢血、肝への脂質合成の時間的推移 (Fig17, Table 2) では今回得られた成績で各脂質への $^{14}$ C取り込みから判断して Oxan が脂質合成に著明な変化を与えた結果、血中脂質の変動を惹起するか否かは明らかにし得ずこの事より血清脂質の増減を説明し難く、むしろ Chol の異化代謝面に於ける影響が重視される。肝主要脂質分画の $^{14}$ C取り込み百分率は主に各群共に TG, PL 二群が占めているが、Oxan 群では PL 増加, TG 低下する。Dex 群が TG の取り込み増加するのに比べ Oxan を併用する事に依り Control に近づく事が認められた。次に肝主要脂肪酸への $^{14}$ C取り込み百分率は、Dex+Oxan 群で C14:0 + C16:0, C18:0, C18:1 で Dex 群の変化を是正する様な傾向が見られた。

## 第五章 結 論

1) ステロイドホルモン投与により ICR 系雄性マウスは10日目で体重減少並びに血糖上昇傾向を認めた。

2) 血清脂質は特に Cholesterol が若年マウスでステロイド投与により10日目で高値を示した。

3) 1- $^{14}$ C-Acetate 10 $\mu$ Ci 腹腔内投与15分後に於て若年群はステロイドホルモン投与10日目で肝 1g 当りの脂質放射活性は低下し、末梢血 1ml 当りでは増加した。 $^{14}$ C取り込みによる末梢血並びに肝各脂質分画百分率は大部分中性脂肪と燐脂質でその増減は

ステロイド負荷で末梢血と肝で負の相関を示した。

4) ステロイド投与により肝総脂肪酸、磷脂質、中性脂肪脂酸への<sup>14</sup>C取り込み百分率ではオレイン酸低下を示した。

5) 必須脂肪酸の変換では、リノール酸はステロイド処置にてより長鎖及びより短鎖の脂酸への動きがやゝ亢進する。γリノレン酸はステロイド5日間投与群で著しく変換された。

6) ステロイドホルモン投与時に蛋白同化ホルモンを併用する事により、体重減少並びに血清脂質値の上昇を抑制した。又その際に1-<sup>14</sup>C-Acetateの肝

主要脂質分画への<sup>14</sup>C取り込み百分率は中性脂肪低下、磷脂質増加を示した。

本論文の要旨は、第43回日本内分泌学会（昭和45年3月）、第12回日本老年医学会（昭和45年11月）、第13回日本老年医学会（昭和46年11月）に於て発表した。

稿を終わるに臨み校閲の労をお取り頂いた恩師平木潔教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導頂いた木畑正義講師に厚く御礼申し上げます。

## ABSTRACT

# Studies on the effects of the glucocorticoid hormon on the lipid and cardohydrate metabolisms

Takehisa Kikuchi

Part II. Experimental study of the effect of glucocorticoid hormon on the lipid metabolism

1) The effect of glucocorticoid on 1-<sup>14</sup>C-acetate incorporation into major lipids classes and each fatty acid.

Male ICR mice were injected intramuscularly Dexamethasone 1.33mg/kg for five days in one group, for ten days in the other and not injected as a control. One hour after injecting ten microcuries of 1-<sup>14</sup>C-Acetate intraperitoneally, <sup>14</sup>C was recovered in the whole blood and liver of the both groups, and activities were increased in whole blood and decreased in liver of the ten-day group.

<sup>14</sup>C was recovered mainly in the triglyceride and phospholipid among major lipid classes of peripheral blood and liver, and there was a negative correlation of radioactivities of triglyceride and phospholipid between the liver and whole blood during the treatment with steroid. Radioactivity recovered in the oleic acid was decreased in percentages among total fatty acids and esterified fatty acids of phospholipid and of triglyceride.

Therefore, it is considered that mono-unsaturation mechanism in fatty acid might be suppressed by steroid treatment, whereas a relative increase of recovery of <sup>14</sup>C was observed in fatty acids with longer chain than linoleic-acids chain.

2) Effect of GCH on conversion of 1-<sup>14</sup>C-linoleate and 1-<sup>14</sup>C-linolenate in the total fatty acids of the liver to other several fatty acids with long chain.

Ten microcurie each of 1-<sup>14</sup>C-linoleate and 1-<sup>14</sup>C-linolenate were mixed with human serum, albumin, agitated at 55°C for 30 minutes and injected intraperitoneally into the three groups mentioned above. One hour later the animals were killed and their livers were excised for assessment. A few conversions of 1-<sup>14</sup>C-linoleate into longer and shorter chains of fatty acids were observed in the both groups treated with steroid, but 1-<sup>14</sup>C-linolenate was converted significantly and highly to other longer chain of fatty acids, especially in the five-day group.

3) The effect of anabolic steroid hormon on lipids metabolism in liver and whole blood.

Oxandrolone 4 mg/kg body weight was given orally to the two groups treated with steroid, and non-treated group with oxandrolone and steroid was kept as control. Loss of body weight and elevation of serum lipids appeared to be less than in the group treated with only GC-H. Concerning the study on main lipid fractions of liver, when Dexamethasone was injected together with Oxandrolone, percentage of incorporation of 1-<sup>14</sup>C-acetate into triglyceride was reduced, whereas that into phospholipids was increased.

## 文 献

- 1) Adlesberg, D, Schaefer, L. & Drachmann, S. R: J. Am. Med. Asc. **144**, 909, 1950.
- 2) Dole, V. P.: J. Lab. Clin. Invest **35**, 150, 1956.
- 3) Lauvell, S: Scand. J. Lab. Clin. Invest. **8**, 18, 1956.
- 4) Laurell, S: Acta Physiol. Scand. **41**, 158, 1957.
- 5) Havel, R.J. & Goldfien, A.: Clin. Res. **7**, 116, 1959.
- 6) Shafrir, E., & Steinberg, D.: J. Lab. Clin. Invest. **39**, 310, 1960.
- 7) Goodman, H.M., & Knobil, E.: Endocrinology. **69**, 187, 1961.
- 8) Goodman, H.M., & Knobil, E: Amer. J. Physiol. **201**, 1, 1961.
- 9) Jeanrenaud, B., Renold, A.E: J. Biol. Chem. **235**, 2217, 1960.
- 10) Fain, J.N.: Endocrinology. **71**, 633, 1962.
- 11) Leboeuf, B., A.E. Renold and G.F. Cahill: Endocrinology, **68**:178, 1961.
- 12) Fain, J.N., R.O. Scow & S.S Chernick: J. biol. Chem., **238**:54, 1963.
- 13) Weinges, K.F. and G. Loffler: Klin. Wochenschrift, **42**:502, 1964.
- 14) 葛谷寛元: Cortisone glucose tolerance test (CGTT) の検討, 糖尿病, **6**:35, 1963.
- 15) 葛谷寛元, 森克己: 脂肪組織代謝に及ぼすホルモンの影響, 日内分泌誌, **40**:1272, 1965.
- 16) 高橋善弥太: 日内分泌誌, **53**:1375, 1965.
- 17) 野田信頼: 日内分泌誌, **29**:42, 1, 1966.
- 18) 栗井弘二: 原子力平和利用研究成果報告書, 第10集, 370, 1970.
- 19) Folch, J. Lees, M, & S, Loane Stanley, G. H.: J. Biol. Chem., **226**:497, 1957.
- 20) Metcalfe, L.D., Schmits A.A.: Anal Chem., **33**:363, 1961.
- 21) Stoffel, W., Florence Chu., Ahrens. Jr. & Edward H.: Anal. Chem., **31**:307, 1959.
- 22) Ingle, D. J: Endocrinology, **29**:649, 1941.
- 23) Pastore, E.J. et F.J. Linonetti: Fed. Proc., **17**:287, 1958.
- 24) James, A.T., J.E. Lovelock, & Joan P.W. Webb: Biochem. J., **73**:106, 1959.
- 25) 木畑正義, 岩崎一郎, 尾崎幸成, 藤井靖久, 水川士郎, 平木潔: 日本老年医学会雑誌, **4**:177, 1967.
- 26) 木畑正義, 尾崎幸成, 水川士郎, 藤井靖久, 平木潔: 高令医学, **7**:43, 1969.
- 27) Imai, Y: J. Biochem. **49**, 642, 1961.
- 28) Alfin Slater, R.B.: Physiol. Rev. **41**:1, 1961.
- 29) Mead, J.F: Fed. Proc. **20**:952, 1961.
- 30) Nugtern, D.H: Biochim. Biophys. Acta. **106**, 280, 1965.
- 31) Friedman, N., Naomi Friedmann, Alfred Gellhorn, & William Benjamin: Israel J. Med. S-cie. **9**:677, 1966.
- 32) Mercuri, O. Peluffo RO. & Brenner RR: Biochim. Biophys. Acta, **116**:409, 1966.
- 33) 深沢俊男, 高橋善弥太: 肝臓, **9**:485, 1968.
- 34) 藤井靖久, 水川士郎, 菊池武久, 木畑正義: 脂質生化学研究, 237, 1670, 於群馬.
- 35) 吉利和, 織田敏次, 鈴木秀郎, 内藤周幸, 鈴木宏, 福島秀夫, 碓井元夫, 山中正己, 斉藤史郎, 永田直一, 金井弘一: 最新医学, **20**:834, 1961.