

研究報 文

視床下部性肥満マウスの糖及び脂質代謝異常とホルモン分泌異常との相関

説田 武*, 飯田 優子*, 小笠原雅子*
松井美恵子*, 水尾 朋子*, 藤川 紀子*
伊藤 淑子*, 榎本佐代子*, 岡本 弘子*
森本昌親**, 玉田 妙子**

Relationship between the Abnormalities in both Fat and Carbohydrate Metabolism and Hormone Secretions in Hypothalamic Obese Mice

T. Setsuda, M. D., Y. Iida, M. Ogasawara, M. Matsui, A. Mizuo, N, Fujikawa, Y. Ito, S. Enomoto and H. Okamoto, M. Morimoto, and T. Tamada

I はじめに

Mayer¹⁾は gold thioglucose を投与したマウスでは、視床下部の腹内側核 (VMH) の障害により肥満が発症することを報告した。先きに吾々^{2),3)}は gold thioglucose (GT) の中毒量を dd 系雄マウスの腹腔内に投与して肥満を発症させ、肥満の経過を追って肝と脂肪組織の incubation 実験及び生化学的測定と臓器の組織学的検査を行ない、肥満の進行に伴い、肝と副腎脂肪組織 (副腎脂) では TG の合成と FFA の生成及び動員が活発となり、特に糖尿を伴った肥満マウスでは insulin の他に、glucagon や corticosterone の分泌亢進を示唆する組織学的所見が得られたことを報告した。今回は更に GT 肥満マウスの糖及び脂質代謝異常が、ホルモンの分泌異常と如何なる関連性を持つかを

明らかにする目的で、副腎と膵の incubation 実験、血中の insulin と corticosterone の測定、臓器、特に膵ラ氏島の組織学的検査を行ない、あわせて GT 肥満マウスにみられる insulin 分泌の亢進と肝の糖新生の機序についても検討を加えた。

実験材料及び実験方法

体重15g前後の dd 系雄マウスの腹腔内に GT (Sigma 社) の中毒量 (1mg/g 体重) を 1 回注射し、肥満を発症したものを実験に用いた。飼育方法及び肝と副腎脂肪の incubation 実験は、前回の報告³⁾に準じた。但し、今回は肝と副腎脂肪の incubation を行なう前に、KRB buffer (pH7.4) に 3mM glucose と 0.2% 牛血清アルブミンを加えたメジウム 3ml 中で 60 分間 preincubation を行った。膵の incubation は、3mM glucose と 0.2% 牛血清アルブミンを加えたメジウム 3ml 中で膵切片を 60 分間 preincubate した後、15mM glucose を加えたメジウム 3ml 中で 30 分間 incubate してメジウム中の insulin 放出量を測定した。更に又、arginine (1mg/ml) を添加したメジウム 3ml 中で膵切片を 30 分間 incubate して insulin 放出量を測定し、arginine 負荷試験を行な

* 京都女子大学栄養生理学研究室 (Laboratory of Nutritional Physiology, Kyoto Womens' University)

** 京都専売病院栄養科 (Japan Tobacco and Salt Public Corporation Kyoto Hospital, Division of Nutrition and Division of Clinical Research)

った。副腎の incubation は、2匹のマウスから得た副腎4個を3mM glucose と0.2%牛血清アルブミンを加えたメジウム3ml中で60分間 preincubate した後、11mM glucose と0.5%牛血清アルブミンを加えたメジウム3ml中で90分間 incubate して corticosterone 放出量を測定した。更に、副腎を30分間 incubate した後、500 μ M dbc AMP を添加して60分間 incubate し、corticosterone 放出量を測定して副腎皮質予備能をしらべた。糖、glycogen, TG, FFA の測定は前回の方法³⁾に従った。insulin は京都専売病院検査科でRIA キットを用い、2抗体法にて測定した。血中 corticosterone の測定は、Zerker 法の改良法⁴⁾で corticosterone を抽出した後、島津自記分光蛍光光度計 RE-502型を用いて蛍光測定を行なった。

血清リポ蛋白分画の測定は、cellulose acetate 膜 (Sepraphor III) と Beckman B-2 buffer (pH8.6) 及び Beckan microzone electrophoresis cell (model R-101)を用いて血清の電気泳動を行ない、オゾナイザーを用いて10分間オゾン化した後、Schiff 試薬を用いて染色、3%硝酸で脱色した後、550nmのフィルターを用いて Beckman microzone densitometer (model R-112) で走査を行なった。

肝の糖新生を知る目的で、3mM acetate と0.2%牛血清アルブミンを含むメジウム3ml中で肝切片を60分間 preincubate した後、15mM acetate に切り替えたメジウム3ml中に alanine (3mg/ml 又は6mg/ml) を添加して30分間 incubate し、肝の glycogen 量とメジウム中の glucose 放出量を測定し、同時に肝の TG 量と FFA release をも測定した。臓器の組織学的検査は前回³⁾の方法に従った。肝の glycogen は PAS 染色を、又肝の脂肪と副腎のステロイドはズダンⅢ染色を行

なった。腓ラ氏島の α -細胞と β -細胞は、それぞれ Grimelius 染色及び Aldehyde-fuchsin-trichrome 染色を行なった。

II 検査成績

GT投与マウスの体重は、GT投与後一時減少するが、2週以後は略々直線的に増加し、9週以後は体重増加が緩慢となった。特に糖尿を伴った肥満マウスの体重増加が著明であった。一方、対照マウスの体重増加は、4週までは略々直線的であるが、それ以後は緩慢で、12週以後は殆んど変動がなかった。糖尿が9週から20週にかけての肥満マウスにみられたが、14週では肥満マウスの73%に糖尿が出現した。肝、副腎脂及び腓の湿重量は14週と20週の肥満マウスで著増し、特に肥満糖尿マウスの腓重量が著増した。肥満マウスの副腎重量は対照マウスに比べて7週では大きく、14週では差がなく、又肥満糖尿マウスでは14週は大きい、20週では低値を示した。

I GT肥満マウスの肝の糖及び脂質代謝

a) 肝の glycogen, TG 及びFFA量 (表1)

対照マウスの肝では、glycogen とTGがマウスの発育に伴って増加の傾向を示すが、FFAには著変がない。肥満マウスの肝では、対照マウスに比べて glycogen が少なくTGが多いが、14週の肥満糖尿マウスの肝では、肥満マウスに比べて glycogen が多く、TGが著減した。7週と14週の肥満マウスの肝では、FFAが対照マウスの約2倍に著増したが、14週と20週の肥満糖尿マウスの肝ではFFAに著変がなかった。

b) 肝の incubation 成績 (表2)

肝を90分間 incubate した際の値を表示した。対照マ

表1 GT肥満マウスの肝と副腎脂の glycogen, TG 及び FFA 含有量

マウス	週	肝			副 腎 脂	
		glycogen (μ g/g)	TG (mg/g)	FFA (μ M/g)	TG (mg/g)	FFA (μ M/g)
対 照	0	1197	9.0	5.2	—	—
	7	1414	53.0	9.9	478.3	18.3
	14	2331	20.7	5.3	392.3	25.5
	20	2492	29.6	5.3	567.5	21.3
GT肥満	7	287	42.4	8.0	428.0	25.4
	14	814	54.3	10.2	456.9	29.1
GT肥満 糖 尿	14	1360	17.3	5.5	432.9	19.9
	20	865	50.0	4.5	491.0	39.9

表2 GT肥満マウスの肝の incubation の成績 (90分値)

マウス	週	glucose uptake (mg/g)	glycogen (μ g/g)	TG (mg/g)	FFA (μ M/g)	FFA release (μ M/g)
対 照	7	6.3	0 (632)	24.5 (55.6)	10.9 (15.4)	1.0 (1.4)
	14	8.3	1760	30.4	9.1 (10.3)	1.0 (1.4)
	20	10.5	311	62.4	9.8	1.1 (1.5)
GT肥満	7	6.4	317 (3925)	54.5 (58.1)	14.1	1.4 (2.7)
	14	15.4	0 (1307)	67.6	7.2 (12.8)	2.7
	20	—	—	—	—	—
GT肥満 糖 尿	7	—	—	—	—	—
	14	14.2	199 (429)	20.1 (32.4)	13.3	3.8
	20	10.1	3793	98.3	6.3 (8.4)	1.2 (1.7)

() 内は90分間の最高値を示す。

ウスでは、発育に伴い肝の glucose uptake の増加傾向を認めたが、14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、対照マウスに比べて肝の glucose uptake が著増した。肝の glycogen は90分間の incubation の間に、肥満マウスでは7週が著増を、又14週が増加を示し、20週の肥満糖尿マウスでは著増した。肝の TG は、7週と14週の肥満マウス及び20週の肥満糖尿マウスでは著増したが、14週の肥満糖尿マウスでは著変がなかった。肝の FFA は、14週の肥満及び肥満糖尿マウスで軽度の増加傾向を示した。肝の FFA release は対照マウスでは僅かであるのに対し、7週と14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは増加を示した。然し、20週の肥満糖尿マウスでは著変がなかった。

c) alanine 添加メジウム中での肝の incubation 成績 (表3)

14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスの肝切片を、acetate 含有メジウム中に alanine を添加して30分間 incubate した。14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、対照マウスに比べて glucose release が多いが、alanine 添加後は肥満糖尿マウスだけが glucose release の軽度の増加を示した。20週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、対照マウスに比べて glucose release がいずれも少なく、alanine 添加後も増加しなかった。肝の glycogen は、alanine 添加後、14週の肥満マウスでは殆んど増加せず、肥満糖尿マウスでは顕著な増加を示したが、対照マウスでも著増した。20週の肥満マウスでは、

alanine 添加後の肝 glycogen の増加は著明でないが、肥満糖尿マウスでは対照マウスに比べて増加が極めて著明であった。なお、alanine 添加後、肝の TG は14週の肥満マウス及び20週の肥満糖尿マウスで増加したが、肝の FFA には著変がなく、又 FFA release は14週の肥満糖尿マウスと20週の肥満及び肥満糖尿マウスで増加傾向を示した。

d) 肝の組織学的所見

肝の PAS 染色では、glycogen 顆粒の著明な沈着を14週の肥満糖尿マウスの肝で認めたが、20週では著変がなかった。肝のズダンⅢ染色では、ズダン顆粒(中性脂肪)の沈着が肥満マウスでは対照マウスに比べて多いが、特に14週ではズダン顆粒の沈着が顕著であった。

II GT 肥満マウスの副睪脂の糖及び脂質代謝

a) 副睪脂の TG と FFA 量 (表略)

14週の肥満及び肥満糖尿マウスの副睪脂では、対照マウスに比べて TG が多いが、FFA には著変がなく、又20週の肥満糖尿マウスでは TG がやや少なく、FFA が増加した。

b) 副睪脂の incubation 成績 (表4)

副睪脂を90分間メジウム中で incubate したさいの値を表示した。副睪脂の glucose uptake は、対照マウスに比べて14週の肥満マウス及び20週の肥満糖尿マウスでは増加傾向を示した。TG は14週と20週の肥満糖尿マウスで増加し、FFA は14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスで増加、或いは増加の傾向を示し、又

表3 alanine (6mg/ml) 添加メジウム中でのGT肥満マウスの肝の incubation 成績 (30分値)

マウス	週	alanine 添 加	glucose release (mg/g)	glycogen (μg/g)	TG (mg/g)	FFA (μM/g)	FFA release (μM/g)
対 照	14	(-)	0.86	0	26.5	8.4	1.4
		(+)	0	3793	26.1	15.0	2.6 (2.9)
	20	(-)	0.81	278	25.8	8.7	1.5
		(+)	0.55	1628	41.8	10.2 (13.4)	4.8
GT肥満	14	(-)	1.31	1307	38.2	9.3	1.0
		(+)	0	1982	60.3	10.6 (16.9)	1.3 (3.3)
	20	(-)	0.67	173	66.8	7.8	0.3
		(+)	0.77	776	58.4 (67.9)	16.9 (9.1)	8.5
GT肥満 糖 尿	14	(-)	1.33	429	32.3	10.0	1.4
		(+)	0 (1.74)	2389 (7980)	5.5 (18.7)	6.5 (12.0)	7.4
	20	(-)	0.21	846	24.9	7.9	1.7
		(+)	0.10 (0.22)	389.8	50.8 (91.2)	5.1 (7.2)	7.1

() 内は alanine (3mg/ml) 添加のさいの値を示す。

表4 GT肥満マウスの副腎脂の incubation 成績 (90分値)

マウス	週	glucose uptake (mg/g)	TG (mg/g)	FFA (μM/g)	FFA release (μM/g)
対 照	7	1.2	412.5 (563.5)	29.5 (36.1)	1.7
	14	0.6	562.7	43.9	1.8
	20	0 (0.7)	535.0 (590.3)	13.6 (16.6)	1.2 (1.9)
GT肥満	7	0.3 (1.0)	523.0 (576.6)	37.8	1.0 (1.3)
	14	0 (1.1)	223.4 (456.9)	49.7	4.3
	20	—	—	—	—
GT肥満 糖 尿	7	—	—	—	—
	14	0 (0.2)	678.2	41.7	4.8
	20	0.5 (1.1)	719.0 (886.9)	21.8 (31.8)	3.0

() 内は90分間の最高値を示す。

FFA release はいずれも増加した。

c) 副腎脂の組織学的所見

7, 14, 20 週, 特に 20 週の肥満マウスの副腎脂で

は, 脂肪細胞の肥大を認め, 又14, 20週の肥満糖尿マウスでも同様の所見を得た。Abbe 描画装置とプランメーターを用いて測定した脂肪細胞の面積は, 7 週と 20 週の対照及び肥満マウスでは, それぞれ $6,000\mu^2$ と $9,000\mu^2$, 及び $16,000\mu^2$ と $15,000\mu^2$ で, 従って肥満マウスの脂肪細胞は対照マウスの約2.6倍と1.8倍の肥大を示した。

III GT 肥満マウスの腺及び副腎皮質のホルモン分泌

1) 副腎皮質の corticosterone 分泌

a) 副腎の incubation 成績 (表5)

副腎をメジウム中で 90分間 incubate したさいの corticosterone の放出量を表示した。corticosterone の放出量は対照マウスに比べて, 14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは多いが, 20週の肥満糖尿マウスでは少なかった。

b) dbc AMP 添加メジウム中での副腎の incubation 成績 (表6)

副腎予備能を知る目的で, 副腎をメジウム中で 30分間 incubate した後, $500\mu\text{M}$ dbc AMP をメジウムに添加して60分間 incubate し, corticosterone の放出量を測定した。対照マウスでは 7, 14, 20週ともに

表5 GT肥満マウスの副腎の incubation のさいの corticosterone release (90分値)

マウス 週	corticosterone release ($\mu\text{g/g}$)		
	対 照	GT 肥満	GT肥満糖尿
0	147	—	—
7	87	60	—
14	103	159	163
20	59	—	33

表6 GT肥満マウスの副腎を dbcAMP 添加メジウム中で incubate したさいの corticosterone release (60分値)

マウス 週	corticosterone release ($\mu\text{g/g}$)						
	対 照		GT 肥満		GT肥満糖尿		
dbcAMP	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	
週	0	32	117	—	—	—	—
	7	25	142	26	119	—	—
	14	38	178	—	—	50	219
	20	24	135	—	—	16	71

dbc AMP 添加後, corticosterone の放出量が増加し, dbcAMPによる副腎皮質の刺激効果を認めた。7 週の肥満マウスと14週の肥満糖尿マウスでは, dbc AMP添加後の corticosterone の放出量は対照マウスと殆んど差がなかったが, 20週の肥満糖尿マウスでは対照マウスに比べて放出量が著しく少なかった。

c) 副腎皮質の組織学的所見

7, 14, 20週の対照マウス及び肥満マウスの副腎皮質の幅は, それぞれ 3.0, 3.3, 3.0 μ , 及び3.3, 4.5, 10.6 μ で, 従って肥満マウスの方が対照マウスに比べて副腎皮質の幅が大きく, かつ肥満が進むにつれて幅の増大傾向がみられた。14週と20週の肥満糖尿マウスでも同様の所見を得たが, 皮質細胞の空胞変性は14週の方が20週よりも著明であった。ズダンⅢ染色により, 14週の肥満マウスの副腎皮質ではズダン顆粒が著明に認められたが, 14週の肥満糖尿マウスでは対照マウスと差がなかった。

2) 膵の insulin 及び glucagon 分泌

GT肥満マウスでは, 対照マウスに比べて血清 insulin 値が高く, 又血糖値も高いことを知った。(表7) そこで肥満マウスの膵について, incubation 実験と組

表7 GT肥満マウスの血糖, 血清 insulin 及び血清 TG 値の変動

マウス	例数	週	血清 insulin ($\mu\text{U/ml}$)	血清 糖 (mg/dl)	血清 TG (mg/dl)
対 照	3	0	13	26.8	19.9
	5	7	9	111.3	57.8
	5	14	14	88.0	26.8
	5	20	11	148.0	85.1
GT肥満	5	7	25	82.8	109.6
	2	14	19	221.4	129.8
GT肥満糖尿	2	14	13	143.3	120.7
	3	20	26	203.3	218.2

織学的検査を行なった。

a) 膵の incubation 成績

20週の肥満糖尿マウスの膵切片をメジウム中で30分間 incubate したさいの insulin release は 100 $\mu\text{U/ml}$ で, 対照マウスの膵を incubate した場合の153.5 $\mu\text{U/ml}$ に比べて低値であった。更に arginine を添加したメジウム中で膵切片を30分間 incubate し, arginine 負荷試験を行なうと, arginine 添加後の insulin 放出量の増加率は, 対照マウスの 122.4%に対して20週の肥満糖尿マウスでは51.6%で, 従って20週では, 対照マウスに比べて insulin 分泌能が著しく低下することが示唆された。

b) 膵の組織学的所見 (表8)

膵ラ氏島のうち, 形が整っていて大きいものを選び, プラニメーターでそれらの面積を測定し, ラ氏島を球と見做して直径を求めた。又, α -細胞の染色顆粒を指標にしてラ氏島1個当りの平均 α -細胞数を求めた。ラ

表8 GT肥満マウスの膵ラ氏島の平均直径及び平均 α -細胞数の週別比較

マウス	週	膵ラ氏島の平均直径(μ)	膵ラ氏島の平均 α -細胞数
対 照	0	194	12
	7	321	13
	14	205	9
	20	189	11
GT肥満	7	410	38
	14	482	65
	20	—	—
GT肥満糖尿	7	—	—
	14	355	35
	20	262	18

表9 GT肥満マウスの血中成分濃度の週別比較

マウス	週	体 重 (g)	血 清 insulin 値 (μ U/ml)	血 糖 (mg/dl)	血 清 corticosterone (μ g/dl)	血清TG (mg/dl)	血清リポ蛋白分画比率(%)			
							Alb	α	pre- β	β
対 照	0	18.3	22	185	32.4	56	58.6	4.6	18.7	18.1
	4	22.5	4	242	28.2	111	61.3	8.8	21.9	7.9
	6	21.0	15	102	38.6	66	57.9	7.4	22.2	12.7
	11	25.0	32	114	—	124	40.3	28.9	18.8	12.1
	15	28.6	67	145	33.1	78	33.3	35.3	14.2	17.3
GT肥満	0	18.3	22	185	32.4	56	58.6	4.6	18.7	18.1
	4	28.5	6	290	38.0	92	—	—	—	—
	6	30.0	13	129	39.3	210	46.9	15.6	31.3	6.2
	11	40.0	37	158	—	336	—	—	—	—
	15	54.5	107	224	24.3	100	29.4	37.6	22.7	10.3

氏島の直径は、7、14、20週の肥満及び肥満糖尿マウスでは対照マウスに比べていずれも大きく、特に14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、ラ氏島の大きさが対照マウスの約2倍にも及んだ。然し、20週の肥満糖尿マウスでは14週に比べてラ氏島の肥大は軽度であった。

7、14、20週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、ラ氏島1個当りの平均 α -細胞数が対照マウスに比べて多く、特に7週と14週では α -細胞が著しく増加する傾向を認めた。14週の肥満マウスでは、14週の肥満糖尿マウスに比べてラ氏島の直径が大きく、 α -細胞も多い傾向がみられた。

IV GT肥満マウスの血清中の糖, insulin, TG, corticosterone 値及び血清リポ蛋白分画比率 (表9)

GTをマウスに投与して4、6、11、15週後に血清中の糖, insulin, TG, corticosterone 値, 及び血清リポ蛋白分画比率を測定し、それらの結果を表示した。なお、この実験では肥満マウス11例中、1例だけに糖尿が出現した。血清 insulin は6週後までは対照マウスと差がなく、11週後から増加し、特に15週では対照マウスに比べて著増した。血糖は4週後から増加し、特に15週では対照マウスに比べて著増した。血清 corticosterone は対照マウスに比べて4週では高値を示したが、6週では差がなく、15週ではむしろ低値を示した。血清 TG は6週以後に著増したが、血清リポ蛋白分画比率では pre- β リポ蛋白分画が6週と15週の肥満マウスで増加した。なお、組織学的には肝の glycogen 顆粒が4週と15週で増加し、又副腎皮賞のズダン顆粒が11週と15週で増加の傾向を示した。腓ラ氏島の大きさは、15週では対照マウスの約2倍の増大を示した。

V GT肥満マウスにみられる insulin 分泌亢進機序の解析

a) GT注射後14日間の血糖と血清 insulin 値の変動 (表10)

VMHの損傷が insulin 分泌に及ぼす直接的影響を知る目的で、マウスにGT (1mg/g 体重) を注射して3、7、14日後にそれぞれ血清 insulin 値と血糖値を測定した。血糖値は対照マウスに似た変動を示したが、血清 insulin 値はGT注射後増加し、7日後には 28μ U/ml, 14日後には 30μ U/ml となり、いずれも対照マウスの値に比べて増加した。なお、この期間中は、GT注射マウスの体重の変動は、対照マウスの体重の変動と差がなかった。

b) GT肥満マウスの血糖及び血清 insulin 値に及ぼす減食の影響 (表11)

15週のGT肥満マウスに1日の餌料摂取量を半減して減食を行ない、減食を開始して4日後と8日後にそれぞれ血糖と血清 insulin 値を測定した。餌料を自由

表10 GT投与マウスの血糖, 血清 insulin 値及び体重の14日間の変動

マウス	日	体 重 (g)	血 清 insulin (μ U/ml)	血 糖 (mg/dl)
対 照	0	20.3	16	217
	3	23.5	5	195
	7	23.5	18	157
	14	27.3	14	167
GT 投与	0	20.3	16	217
	3	21.4	20	163
	7	20.9	28	150
	14	27.2	30	163

表11 15週 GT 肥満マウスの減食による体重、血糖及び血清 insulin 値の影響

マウス	日	体重 (g)	血糖 (mg/dl)	血清 insulin (μ U/ml)
自由食	0	54.5	224	107
	4	—	—	—
	8	51.5	160	150
減食	0	54.5	224	107
	4	45.0	378	16
	8	42.0	138	78

に摂取した肥満マウスに比べて、減食して4日後には血糖が一時的に著増したが、血清 insulin 値は著減し、更に8日後には血糖、血清 insulin 値ともに著減した。なお、8日後には体重と肝重量が減少し、又組織学的に肝の glycogen 顆粒が4日後に消失したが、8日後には再び増加の傾向を示した。

III 考 察

GT注射マウスでは、恐らくGTの中毒作用により飼料摂取量が著減し、体重は一時減少の後、2週以後は略々直線的な著増を示した。一方、対照マウスでは4週までは体重が略々直線的に増加するが、それ以後は体重の増加が緩慢で、GT注射マウスの体重を大きく下回った。糖尿がGT注射後9週頃から出現し、14週では肥満マウスの73%に糖尿を認めた。糖尿は、肥満が高度で、脂質代謝が最も活発と思われる14週前、後の肥満マウスに多くみられたが、この時期には insulin の他に glucagon, corticosterone の分泌亢進を認めたことから、糖新生の促進が糖尿或いは高血糖の原因として重視されるが、この点に就いては後述する。

肥満マウスの肝では、対照マウスに比べて、TGが多くて glycogen が少ないが、14週の肥満糖尿マウスの肝では、肥満マウスに比べると glycogen が多く、TGが著明に少なかった。7週と14週の肥満マウスの肝のFFA量は、対照マウスの約2倍に増加したが、14週と20週の肥満糖尿マウスの肝のFFA量は対照マウスと差がなかった。又、肥満マウスの副睪脂では、TG量は対照マウスと差がなく、又FFA量は各週とも軽度の増加傾向を示すが、14週の肥満糖尿マウスでは減少した。これらの点を究明する目的で、肝と副睪脂の incubation 実験を行なった。肥満マウスの肝を incubate すると対照マウスに比べて、7週では glucose uptake に著変がなく、glycogen が増加するが、TGとFFAの増加はみられず、又14週では glucose uptake

及びTGとFFA release が増加するが、glycogenには著しい増加はみられなかった。従って、肝に uptake された glucose は主としてTGやFFAの生成に用いられたものと考えられ、肝の脂質代謝の活発化が示唆される。この時期には血清の pre- β リポ蛋白分画の比率が最も高く、肝で合成されたTGが旺んに血中に動員されたことを示唆する。組織学的にもこの時期の肝では、ズダンⅢ染色によりズダン顆粒、即ち脂肪の著増を認めた。しかし、20週の肥満マウスの肝では、14週に比べて glucose uptake が少なく、TGと glycogen は増加するが、FFAとFFA release が少なかった。従って、20週では肝の脂質代謝が14週に比べて低下することが窺われる。

一方、14週の肥満マウスの副睪脂を incubate すると、TGが著減してFFAとFFA release が増加したことから、副睪脂ではTGの合成のみでなく、FFAの生成と release がいずれも亢進することが示唆される。この時期には副睪脂の重量が対照マウスの約4倍にも増加したことから、体内では脂肪組織で合成されるTGと release されるFFAが著しく増大することが理解される。しかし、20週の肥満マウスの副睪脂を incubate した場合、14週に比べてTGの増加は著しいがFFAとFFA release が低値で、従って20週では副睪脂の脂質代謝が14週に比べてより不活発で、主として脂肪の蓄積が進行するものと思われる。事実、20週の肥満糖尿マウスの副睪脂では脂肪細胞の著しい肥大を認めた。副腎の incubation の結果、対照マウスの副腎では、corticosterone の分泌が幼若期に活発で、成熟と共に低下する傾向がみられ、20週では著しく低下することが示唆された。肥満及び肥満糖尿マウスでは、肝と副睪脂の脂質代謝が最も活発と思われる14週では副腎皮質からの corticosterone 分泌量が対照マウスに比べて著しく増加したが、20週では corticosterone 分泌量の低下を認めた。一方、副腎皮質予備能を調べる目的で、副腎を dbc AMP添加メジウム中で incubate し、release される corticosterone 量を測定した結果、14週の肥満糖尿マウスでは対照マウスと似た corticosterone release を示したが、20週の肥満糖尿マウスでは対照マウスに比べて corticosterone release が少なく、従って20週では副腎皮質予備能の低下が示唆された。組織学的には、14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスの副腎では、皮質の幅の増大傾向を認め、又皮質のズダン顆粒が対照マウスに比べて14週の肥満マウスでは増加し、corticosterone 分泌の亢進を示唆したが、20週の肥満糖尿マウスでは著変を認めなかった。

先きに吾々³⁾は、GT肥満マウスの血清 insulin が高値を示すことを報告したが、今回も7, 14, 20週の肥満マウスについてこれを確認した。20週の肥満糖尿マウスの胄をメジウム中で incubate した際、release される insulin 量が対照マウスに比べて少なく、又、arginine を添加したメジウム中で胄を incubate すると、release される insulin 量が arginine 添加前に比べて約1.7倍の増加を示したが、対照マウスの場合には約2倍の増加を示したのに比べてやや低値で、従って20週では胄ラ氏島の insulin 分泌能が幾分低下するものと思われる。又、吾々^{2), 3)}は先きに、16週と18週のGT肥満マウスの胄を組織学的にしらべた結果、ラ氏島の直径と数の増加傾向、及び β -細胞のみならず α -細胞の増加傾向のあること、更に又13週の肥満マウスと17週の肥満糖尿マウスの胄ラ氏島でも、 β -細胞の他に α -細胞の増殖傾向のあることを認め、これらを報告した。今回、引き続き7, 14, 20週の肥満及び肥満糖尿マウスの胄ラ氏島を調べた結果、ラ氏島の平均直径は対照マウスに比べていずれも大きく、特に14週では対照マウスの約2倍の肥大を示したが、これに比べて20週の肥満糖尿マウスでは肥大が軽度であり、ラ氏島1個当りの α -細胞数は、対照マウスに比べて各週とも多く、特に14週の肥満マウスでは α -細胞が著増したが、これに比べて14週の肥満糖尿マウスではラ氏島がむしろ小さく、 α -細胞の数も少ない傾向がみられた。吾々は先きの報告³⁾で、GT肥満糖尿マウスではGT肥満マウスに比べて、組織学的検査で肝の glycogen 顆粒及び胄ラ氏島の α -細胞の増加傾向、更に又副腎皮質の肥大とズダン顆粒の増加傾向がみられたことから、少くとも glucagon や corticosterone の分泌亢進の結果、糖新生が促進して過血糖、或いは糖尿を招来する可能性があることを示した。今回は、14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスの肝を alanine 添加メジウム中で incubate し、肝の glycogen 量と glucose release を主な指標として肝の糖新生をしらべた。alanine 添加後、14週の肥満糖尿マウスの肝だけに軽度の glucose release を認め、又肝の glycogen 増加は肥満マウスでは軽度であるが、肥満糖尿マウスでは著明であった。又、20週の肥満及び肥満糖尿マウスの肝では、alanine 添加後、glucose release には著変がないが、肝の glycogen が特に肥満糖尿マウスで著増した。組織学的に、肝の glycogen 顆粒は14週の肥満糖尿マウスで著増したが、20週では著変がなかった。なお、alanine 添加後、肝の TG が14週の肥満マウスと20週の肥満糖尿マウスで著増し、又 FFA release が14週の肥満マウスと20

週の肥満及び肥満糖尿マウスで増加した。即ち、これらの肥満マウスの肝では、alanine 添加後 glucose release は著明でないが、glycogen 及び TG と FFA が増加した、この事は糖原性アミノ酸である alanine から pyruvate、更には、糖新生系を経て生成された glucose が、insulin の作用下で glycogen、更には TG 又は FFA の生成に利用された可能性を示唆する。肥満マウスの肝及び副腎脂では、insulin の過剰分泌のために解糖 (glycolysis) が促進し、更には acetyl coA を経て FFA や TG の生成が促進することが考えられる。上述の如く、14週の肥満及び肥満糖尿マウスの肝の incubation では、glucose uptake が大きく、glycogen は増加しないが、TG と FFA が増加ないしは増加傾向を示し、又20週の肥満糖尿マウスの肝では glycogen と TG が著増したが、FFA と FFA release には著変がなかった。吾々³⁾は先きに、17週の肥満糖尿マウスの肝を incubate すると、全例とも FFA 生成の亢進を示し、又副腎脂の incubation では FFA の生成と release が増加するのを認めた。この FFA の増加は、その酸化によって生ずるクエン酸の増量を来し、解糖系の PFK (phosphofructokinase) の活性を抑制することにより解糖を抑制して糖新生系の key enzymes の活性を促進する^{5), 6), 7)}ことが考えられる。

肝と副腎脂の脂質代謝が最も活発と思われる14週の肥満及び肥満糖尿マウスでは、胄ラ氏島からの glucagon 分泌が亢進し、又副腎皮質からの corticosterone 分泌も亢進する傾向があることは既に述べた。特に、glucagon に感受性が高いと言われる肝細胞では、glucagon の作用により C-AMP が増加して phosphorylase 活性を高め、glycogen を分解して肝よりの glucose の動員を促進する⁷⁾が、glucagon は又肝及び脂肪組織での脂肪分解を促進して FFA と glycerol を増加することにより、糖新生を促進する (Harper⁷⁾, Blair⁸⁾ら)。又、corticosterone は脂肪組織での lipolysis を促進して FFA を増加し^{7), 9)}、末梢組織での glucose uptake や解糖を低下させると同時に、肝でのアミノ酸代謝に関与する酵素及び糖新生に関連のある key enzymes、例えば、pyruvate carboxylase, PEP carboxykinase, FDPase, G6Pase を特異的に増加する作用がある⁷⁾と言われている。従って、肥満マウスの体内では、少くとも glucagon や corticosterone の分泌亢進により、解糖が抑制されて糖新生が促進するものと思われる。しかし、この点については、実際に解糖系及び糖新生系の酵素活性を測定した後に解明されるべきであろう。いずれにせよ、肥満マウスの体内でのエネルギー代謝の

面から考えて、糖及び脂質代謝のホルモン調節は甚だ合目的な生命現象と言えよう。Triscari¹⁰⁾らは、肥満 Zucker ラットでは、肝と腎の PEP carboxylase 活性、及び腎の glucose 産生の増加、更に又肝での glycogen 生成の促進が認められたことから、過血糖は肝と腎での glucose 産生の増加によるものと考えた。しかし、吾々の GT 肥満マウスにみられた糖尿、或いは過血糖の原因に就いては十分明らかではない。しかし、既述の如く、少くとも glucagon や corticosterone の分泌亢進による glycogen の分解や糖新生の促進の他に、高insulin血症に伴う多食、或いは未梢組織での insulin 抵抗性の増大¹¹⁾による glucose uptake の低下、或いは glucose の利用障害が過血糖或いは糖尿と関連していることが考えられる。GT 肥満及び肥満糖尿マウスでは、血清 insulin が高値又は高値の傾向を示すにも拘らず、血糖値が14週の肥満及び肥満糖尿マウス、及び20週の肥満糖尿マウスではいずれも高値を示した。この肥満マウスにみられる高血糖が、糖尿病のさいの高血糖とは発生機序の上で異っていることは、膝ラ氏島において β -細胞の増殖を認めたことから明らかであり、恐らくは上述の如く、糖新生の促進や未梢組織での insulin 抵抗性の増大と深いかかわりを持っているように思われる。血清の TG と pre- β リポ蛋白分画比率が14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスで高値を示したが、これは高 insulin 血症の結果、肝で glucose からの TG 合成が活発となり、TG が臍んに血中に動員されたことを示唆する。

視床下部腹内側核 (VMH) の電氣的、又は機械的障害が血清 insulin の増加を来たす^{11), 12), 13)}と言われている。しかし、GT 投与によって VMH を障害して発生した視床下部性の肥満マウスにみられる高 insulin 血症は、視床下部の損傷の他に、多食或いは糖新生の促進による高血糖が関連しているように思われる。

GT の中毒量をマウスに注射して 3, 7, 14 日後に血糖と血清 insulin を測定すると、血糖には著変がないが、血清 insulin が3日後から既に増加するのを認めた。注射後1週間は、マウスの体重増加が対照マウスに比べて少なく、餌料の摂取量も少なかったことから、GT 注射による視床下部の障害そのものが血清 insulin を増加させることが考えられた。しかし、15週の肥満マウスに減食を行なうと、血糖は4日後に一時的増加を示すが、8日後には減少し、又血清 insulin 値は4日後、8日後ともに著減した。体重は減食により次第に著減したが、肝重量も減少した。従って、GT 肥満マウス、殊に肥満が高度に進行した時期の高 insulin

血症には、多食が少なからず影響しているように思われた。

IV 結 論

GT 注射により発症した視床下部性肥満及び肥満糖尿マウスに就いて、糖及び脂質代謝異常とホルモン分泌異常との関連性を知る目的で、肝と副腎脂の他に副腎と膝の incubation 実験、及び組織学的検査を行ない、併せて GT 肥満マウスの高 insulin 血症及び肝の糖新生の成因について検討を加えた。

1) GT 注射後14週の肥満マウスの肝では、glycogen の減少、TG と FFA の増加、及び血清の pre- β リポ蛋白分画比率の増加を認め、肝での脂質代謝の活発化を示唆したが、14週の肥満糖尿マウスの肝では、肥満マウスに比べて glycogen が多く、TG が少なかった。

2) GT 肥満マウスの肝を in vitro で incubate すると、7, 14, 20 週とも TG が増加し、FFA の増加は明らかでないが、FFA release が特に14週の肥満及び肥満糖尿マウスで増加した。

3) GT 肥満マウスの副腎脂の incubation 実験では、7, 14, 20 週とも TG と FFA の増加傾向を示し、又特に14週と20週では FFA release が増加し、副腎脂での TG の合成と分解が活発であることを示唆した。

4) 7, 14, 20 週の GT 肥満マウスでは血清 insulin が増加したが、20週の肥満糖尿マウスの膝を arginine 添加メジウム中で incubate すると、対照マウスに比べて insulin の release が少なく、膝ラ氏島からの insulin 分泌の低下傾向を示唆した。

5) GT 肥満マウスの副腎を incubate すると、corticosterone の release が14週では増加を、又20週では減少傾向を示したが、dbc AMP 添加メジウム中で副腎を incubate すると、corticosterone の release が14週では著変がないが、20週では低値を示し、副腎皮質予備能の低下を示唆した。なお、肥満マウスでは、血清 corticosterone 値が対照マウスに比べて4, 6 週で増加、15週で減少の傾向を示した。

6) 組織学的に7, 14, 20 週の GT 肥満マウスの膝では、いずれもラ氏島の肥大、及び β -細胞のみならず、 α -細胞の増殖傾向を認め、insulin と glucagon の分泌亢進が示唆された。又、副腎脂では、肥満の進行に伴い脂肪細胞の著しい肥大を認めた。

7) 14週と20週の肥満及び肥満糖尿マウスの肝を alanine 添加メジウム中で incubate した結果、肝での糖新生の促進を示唆する成績が得られた。これには肝での FFA の増加や、少くとも glucagon や cortico-

sterone の分泌亢進が関連していることが考えられた。

8) 肥満マウスの高血糖, 或いは糖尿の成因として, 肝での糖新生の促進の他に, 末梢組織での insulin 抵抗性の増大による糖の利用障害が考えられた。

9) GT 注射後 1 週間は マウスの体重と飼料摂取量が減少したにも拘らず, 血清 insulin 値が 3 日後から漸増したことから, GT による視床下部の障害が insulin 分泌を増加させることを示唆した。しかし, 15 週の GT 肥満マウスに減食を行うと, 8 日後には体重と血糖の減少, 及び血清 insulin の減少を認めたことから, GT 肥満マウスの高 insulin 血症には多食が少なからず影響していることを知った。

本研究の概要は, 第50回日本内分泌学会 (福岡, 昭和52年) 及び第51回日本内分泌学会 (東京, 昭和53年) で発表した。本研究に協力して戴いた本研究室の鳥居助手に感謝する。

参考文献

- 1) Mayer, J.; Human nutrition; its physiological, medical and social aspects. 291-294 (1972), Charles C. Thomas, U.S.A.
- 2) 説田武, 清水康代, 清水久美子, 津田千恵子, 猶原裕子; 京都女子大学食物学会誌, 30, 5-14 (1975)
- 3) 説田武, 大井恵子, 小田文子, 西尾和子, 山本晶子; 京都女子大学食物学会誌, 31, 7-20 (1976)
- 4) 岩井一義; 現代診断検査法大系—内分泌疾患(1), 117-118 (1964), 中山書店 (東京)
- 5) 千葉英雄, 伊倉宏司; 蛋白質, 核酸, 酵素22, 301-303 (1977)
- 6) Weber, G., Lea, M.A., Convery, H.J.H. & Stamm, N.B.; Advance in enzyme regulation 5,257-300 (1968)
- 7) Harper, H.A.; 三浦義彰監訳, ハーパー生化学 492-494; 502-504 (1975) 丸善
- 8) Blair, J.B., Cimbala, M.A., Foster, J.L. & Morgan, R.A.; J.B.C. 251, 3756-3762 (1976)
- 9) Fain, J.N., Scow, R.O. & Chernick, S.S.; J.B.C. 238,54-58 (1963)
- 10) Triscari, J., Stern, J.S., Johnson, P.R. & Sullivan, A.C.; Metabolism 28, 183-189 (1979)
- 11) 嶋津孝, 公文明; 臨床科学11, 848-858 (1975)
- 12) 近森一正, 末広史恵, 佐藤敬, 西村典三, 和泉英彦, 森博愛; 日本内分泌学会誌55, 342 (1979)
- 13) 坂本美一, 葛谷健, 井上修二; 日本内分泌学会誌55, 472 (1979)