Relationship between Acetate Metabolism and TCA cycle in Rumen Epithelium of Normal, Starved and Alloxan Diabetic Sheep

**Katsuo SETO, Keiko OTSUKA, Takashi HIGUCHI, Shiro ISHIDA,
Michiko TAKESHIMA, Makiko KON and Masazumi KAWAKAMI**

Biochemical Research Institute, Kanagawa Rehabilitation Center, Atsugi and
Department of Physiology, Yokohama City University School of Medicine, Yokohama

Mizuko YAMAJI and Tsuneyuki TSUDA

Department of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai

Arthur L. BLACK

Department of Physiological Sciences, University of California, Davis

It was reported that there was a relationship between the acetate metabolism and TCA cycle in rumen epithelium of sheep. The present study was designated to elucidate how this relationship was influenced by starvation and alloxan treatment.

The results obtained are summarized as follows. There was no effect of the addition of citrate or succinate on the ^{14}C transfer from ^{14}C -acetate into CO_2 , glucose, ketone bodies and lipid fractions and there was also no effect of the acetate addition on the ^{14}C transfer from ^{14}C -citrate or -succinate into all these fractions in rumen epithelium of normally fed sheep. In rumen epithelium of starved sheep, the ^{14}C transfer from ^{14}C -acetate into ketone bodies, cholesterol, NEFA and phospholipid was increased and the ^{14}C -glucose formation from ^{14}C -acetate was decreased by the addition of citrate, and the ^{14}C -transfer from ^{14}C -citrate into ketone bodies, triglyceride and phospholipid was decreased by the addition of acetate. But in rumen epithelium of alloxan diabetic sheep, there was no effect of the citrate addition on the acetate metabolism, and there was also no effect of the acetate addition on the citrate metabolism. In rumen epithelium of starved and alloxan diabetic sheep, the ^{14}C transfer from ^{14}C -acetate into ketone bodies, cholesterol, NEFA and phospholipid was increased by the addition of succinate, and the ^{14}C transfer from ^{14}C -succinate into ketone bodies, cholesterol and phospholipid was increased by the addition of acetate.

As mentioned above, the relationship between acetate metabolism and TCA cycle in rumen epithelium of sheep was changed by starvation and alloxan treatment.

(See pp. 60~66)

正常、飢餓およびアロキサン糖尿ヒツジの第一胃粘膜における酢酸代謝と TCA サイクルとの関係

神奈川県総合リハビリテーションセンター生化学研究室・

横浜市立大学医学部第二生理学教室
第二内科学教室

瀬戸 勝男, 大塚 啓子

樋口 隆, 石田 孜郎

竹島 三知子, 昆 真紀子

川上 正澄

東北大学農学部家畜生理学教室

山路 瑞子, 津田 恒之

カリホルニア大学, デービス, 生理科学科

Arthur L. Black

(昭和48年9月28日受付)

ヒツジの第一胃粘膜における酢酸代謝と TCA サイクルとの相互関係について検索を行なったところ、酢酸代謝とクエン酸代謝は飢餓時にのみ相互関係を有し、正常およびアロキサン糖尿時に無関係に行なわれていること、ならびに酢酸代謝とコハク酸代謝は、飢餓およびアロキサン糖尿時に相互関係を有し、正常時には無関係に行なわれていると推測される。

緒 言

酢酸の代謝が TCA サイクルと密接な関係を持っていることは周知の事実であるが、消化管内よりの酢酸吸収に重要な役割を果たしているヒツジの第一胃粘膜において酢酸の消費およびそれよりの CO_2 生成がマロン酸およびフロロ酢酸阻害を受けることならびに酢酸とオキザロ酢酸との共存によってクエン酸の生成が増加することに加えてフロロ酢酸阻害によってクエン酸の大量蓄積がおこることなどが認められている¹⁾²⁾。これらの事実はヒツジの第一胃粘膜においても酢酸代謝に TCA サイクルが関与していることを示しているものと考えられるが、一方第一胃粘膜における酢酸代謝が飢餓およびアロキサン処理の影響を強く受けることならびに酢酸代謝と解糖系との関係がアロキサン処理によって変化することなどが知られているので³⁾⁴⁾⁵⁾、酢酸代謝と TCA サイクルとの関係が飢餓或いはアロキサン処理によって変化することは充分に考えられる。そこでこの点をより明らかにする実験の一端として、正常、飢餓およびアロキサン糖尿ヒツジの第一胃粘膜を用いて、クエン酸およびコハク酸添加の酢酸よりの CO_2 、ブドウ糖、ケトン体ならびに各脂質分画の生成に対する影響ならびにクエン酸およびコハク酸代謝に対する酢酸添加の影響について観察を行ない、それらの間の相互作用が飢餓およびアロキサン処理によって変化する場合があることを認めたのでそれについて報告する。

方法および材料

方法および材料はすべて前報⁴⁾と同様である。即ち体重 45kg 前後の雌ヒツジを用い、600g の乾草ならびに 400g の濃度飼料を毎日午前8時に給与し、これを正常飼育群とし、7日間絶食させたものを飢餓群とし

た。また体重 1 kg あたりの 80mg のアロキサンを 50ml の生理的食塩水とともに頸静脈内に投与したものをアロキサン糖尿病群とし、投与 4 日後に実験に供した。正常群の血糖値が 60mg/dl 前後であるのに対して、このアロキサン処理によって屠殺直前の血糖値は 200mg/dl 以上になっており、かなりの上昇を示している。なおこの群における飼育条件は正常飼育群と同様にし、各群とも水道水を自由に摂取させた。

動物はすべて午後 3 時に頸動脈よりの放血により屠殺し、すみやかに第一胃粘膜を採取した。その 2 g を ^{14}C -1-酢酸, ^{14}C -2-酢酸 (以下両者を合わせて ^{14}C -酢酸と略記) 或いは, ^{14}C -1, 5-クエン酸 (以下 ^{14}C -クエン酸と略記), ^{14}C -1, 4-コハク酸 (以下 ^{14}C -コハク酸と略記) の Na 塩 100 μmoles (1 μCi) を含む Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (pH 7.4) 10ml とともに気相 $\text{O}_2 : \text{CO}_2 = 95 : 5$ のもとに 38°C にて 3 時間振盪しながら incubation を行なった。無標識のクエン酸, コハク酸或いは酢酸を共存させる場合もやはりそれらの Na 塩 100 μmoles を含むように調整した。

Incubation 終了後、前報⁴⁾に引用した方法により CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画を分離し、各分画の放射性もやはり前報⁴⁾の方法により測定した。この場合脂質分画中の非エステル型脂肪酸 (以下 NEFA と略記) 分画には酢酸, プロピオン酸ならびに酪酸などは含まれていない。また incubation に用いた第一胃粘膜の総窒素を micro-Kjeldahl 法によって測定し、各分画への ^{14}C のとりこみを組織窒素 1 g あたりの μmCi で表現した。表に示した総ての値は 5 例の動物について行なった実験結果の平均 $\mu\text{mCi} \pm \text{S.D.}$ であり、この際各群の差が 0.1 μmCi 以下の場合にはたとえ有意の差があってもとりこみの量的な差が少なすぎると考えその差はとりあげないことにした。

結 果

Table 1 ならびに Table 2 に示したように正常時の ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画へのとりこみはクエン酸およびコハク酸添加の影響をほとんど受けていない。また ^{14}C -クエン酸および ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画へのとりこみも酢酸添加の影響をほとんど受けていない。

Table 3 に示したように ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画へのとりこみは飢餓によって減少する。 ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 , トリグリセリド, 遊離コレステロールな

Table 1. Effect of citrate on metabolism of acetate in rumen epithelium of normally fed sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -citrate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	265.1 $\pm$ 11.3**	9.8 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.2	3.3 $\pm$ 0.1	10.7 $\pm$ 0.5	5.4 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	35.0 $\pm$ 1.2
^{14}C -2-acetate	83.7 $\pm$ 2.5	19.4 $\pm$ 0.8	9.6 $\pm$ 0.4	6.4 $\pm$ 0.2	15.6 $\pm$ 0.7	8.1 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.1	58.4 $\pm$ 1.7
^{14}C -1, 5-citrate	331.9 $\pm$ 14.7	18.1 $\pm$ 0.6	2.6 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	8.6 $\pm$ 0.4
^{14}C -1-acetate + citrate***	261.2 $\pm$ 10.1	10.3 $\pm$ 0.6	5.4 $\pm$ 0.2	3.2 $\pm$ 0.1	10.3 $\pm$ 0.8	5.1 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.0	35.8 $\pm$ 1.8
^{14}C -2-acetate + citrate***	84.3 $\pm$ 2.7	20.3 $\pm$ 0.9	10.1 $\pm$ 0.5	6.7 $\pm$ 0.3	14.9 $\pm$ 0.7	7.8 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.1	57.8 $\pm$ 2.3
^{14}C -1, 5-citrate + acetate***	327.2 $\pm$ 15.6	17.6 $\pm$ 0.7	2.4 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	8.2 $\pm$ 0.3

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -citrate (100 μmoles , 1 μCi).

*Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μmCi per g of tissue $\pm$ S.D. in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled citrate or acetate added into incubation flask.

Table 2. Effect of succinate on metabolism of acetate in rumen epithelium of normally fed sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -succinate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	$272.0 \pm 12.8^{**}$	10.3 ± 0.6	4.9 ± 0.3	3.1 ± 0.1	10.9 ± 0.7	5.2 ± 0.2	0.5 ± 0.0	34.9 ± 1.6
^{14}C -2-acetate	86.1 ± 4.0	20.2 ± 0.9	10.4 ± 0.6	6.2 ± 0.3	14.8 ± 0.8	7.8 ± 0.3	2.4 ± 0.1	59.5 ± 2.2
^{14}C -1, 4-succinate	384.5 ± 16.6	21.3 ± 1.1	3.9 ± 0.2	0.4 ± 0.0	2.1 ± 0.1	0.7 ± 0.0	0.2 ± 0.0	9.6 ± 0.4
^{14}C -1-acetate + succinate***	275.8 ± 13.6	9.8 ± 0.5	5.2 ± 0.3	3.0 ± 0.1	11.5 ± 0.6	5.0 ± 0.2	0.6 ± 0.0	35.7 ± 1.8
^{14}C -2-acetate + succinate***	82.4 ± 4.1	19.5 ± 1.0	11.0 ± 0.5	6.5 ± 0.4	15.3 ± 0.7	8.1 ± 0.4	2.5 ± 0.1	61.9 ± 3.0
^{14}C -1, 4-succinate + acetate***	390.7 ± 19.2	20.5 ± 1.2	4.0 ± 0.2	0.3 ± 0.0	2.0 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.3 ± 0.0	10.1 ± 0.5

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -succinate ($100\mu\text{moles}$, $1\mu\text{Ci}$).

*Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. ***Mean μmCi per g of tissue $\text{N} \pm \text{S.D.}$ in 5 animals. *** $100\mu\text{moles}$ of unlabelled of succinate or acetate added into incubation flask.

Table 3. Effect of citrate on metabolism of acetate in rumen epithelium of starved sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -citrate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	$157.4 \pm 7.3^{**}$	2.0 ± 0.1	3.3 ± 0.1	0.9 ± 0.0	5.4 ± 0.2	1.0 ± 0.0	0.2 ± 0.0	10.2 ± 0.4
^{14}C -2-acetate	19.7 ± 1.3	3.0 ± 0.2	9.1 ± 0.5	2.5 ± 0.1	8.7 ± 0.3	2.4 ± 0.1	1.1 ± 0.0	21.9 ± 1.3
^{14}C -1, 5-citrate	271.9 ± 10.6	25.8 ± 1.0	3.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	1.0 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	5.7 ± 0.3
^{14}C -1-acetate + citrate***	162.1 ± 8.0	0.9 ± 0.0	4.2 ± 0.1	1.3 ± 0.0	7.9 ± 0.3	1.5 ± 0.0	0.7 ± 0.0	16.4 ± 0.5
^{14}C -2-acetate + citrate***	18.9 ± 1.2	1.4 ± 0.0	14.7 ± 0.6	4.2 ± 0.2	12.3 ± 0.5	3.7 ± 0.1	2.0 ± 0.1	37.4 ± 1.1
^{14}C -1, 5-citrate + acetate***	282.0 ± 12.2	26.2 ± 0.1	1.7 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.6 ± 0.1

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -citrate ($100\mu\text{moles}$, $1\mu\text{Ci}$).

*Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μmCi per g of tissue $\text{N} \pm \text{S.D.}$ in 5 animals. *** $100\mu\text{moles}$ of unlabelled citrate or acetate into incubation flask.

らびにリン脂質へのとりこみは飢餓によって減少するが, ^{14}C のブドウ糖ならびにケトン体へのとりこみは飢餓によって逆に増加する. 飢餓時でのクエン酸添加は ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみに対しては見るべき影響を与えないが, ^{14}C のブドウ糖へのとりこみを減少させる一方, ^{14}C のケトン体, コレステロールエステル, トリグリセリド, 遊離コレステロール, NEFA ならびにリン脂質へのとりこみを増加させている. 酢酸の添加は ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 ならびにブドウ糖へのとりこみに対して影響を与えないが, ^{14}C のケトン体, トリグリセリドならびにリン脂質へのとりこみを減少させている.

Table 4 に示したように, ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 , トリグリセリド, 遊離コレステロールならびにリン脂質へのとりこみは飢餓によって減少するが, ^{14}C のブドウ糖ならびにケトン体へのとりこみは飢

Table 4. Effect of succinate on metabolism of acetate in rumen epithelium of starved sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -succinate							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	164.0 $\pm$ 7.1**	1.9 $\pm$ 0.1	3.2 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0	5.2 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	10.7 $\pm$ 0.5
^{14}C -2-acetate	18.8 $\pm$ 0.9	3.1 $\pm$ 0.1	8.8 $\pm$ 0.4	2.7 $\pm$ 0.2	8.4 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0	22.7 $\pm$ 1.1
^{14}C -1, 4-succinate	334.9 $\pm$ 10.5	34.2 $\pm$ 1.4	5.1 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.0	1.5 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	4.1 $\pm$ 0.1
^{14}C -1-acetate + succinate***	161.2 $\pm$ 7.4	1.8 $\pm$ 0.1	4.7 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.0	18.0 $\pm$ 0.7
^{14}C -2-acetate + succinate***	19.1 $\pm$ 0.9	3.0 $\pm$ 0.1	16.2 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.1	39.9 $\pm$ 1.8
^{14}C -1, 4-succinate + acetate***	328.4 $\pm$ 11.6	35.1 $\pm$ 1.1	6.4 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	6.1 $\pm$ 0.2

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -succinate (100 μ moles, 1 μ Ci).

*Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μ mCi per g of tissue $\text{N}\pm\text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μ moles of unlabelled succinate or acetate added into incubation flask.

Table 5. Effect of citrate on metabolism of acetate in rumen epithelium of alloxan diabetic sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -citrate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	79.3 $\pm$ 3.2	0.9 $\pm$ 0.0	14.6 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 0.0	2.9 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 0.0	4.3 $\pm$ 0.1
^{14}C -2-acetate	9.1 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.0	25.9 $\pm$ 1.0	1.9 $\pm$ 0.1	6.6 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.1	4.9 $\pm$ 0.2	13.4 $\pm$ 0.6
^{14}C -1, 5 -citrate	204.5 $\pm$ 8.8	32.5 $\pm$ 1.3	3.7 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	4.5 $\pm$ 0.1
^{14}C -1-acetate + citrate***	76.5 $\pm$ 3.6	1.0 $\pm$ 0.0	13.8 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 0.0	4.1 $\pm$ 0.2
^{14}C -2-acetate + citrate***	9.6 $\pm$ 0.5	1.5 $\pm$ 0.0	27.1 $\pm$ 1.1	2.0 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 0.3	14.0 $\pm$ 0.7
^{14}C -1, 5-citrate + acetate***	211.8 $\pm$ 10.3	33.6 $\pm$ 1.5	3.5 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	4.7 $\pm$ 0.2

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -citrate (100 μ moles, 1 μ Ci).

*Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μ mCi per g of tissue $\text{N}\pm\text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μ moles of unlabelled citrate or acetate added into incubation flask.

餓によって逆に増加する。飢餓時でのコハク酸添加は、 ^{14}C —酢酸よりの CO_2 、ブドウ糖、ならびにトリグリセリドへのとりこみに対しては見るべき影響を与えないが、 ^{14}C のケトン体、コレステロールエステル、遊離コレステロール、NEFA ならびにリン脂質へのとりこみを増加させている。酢酸添加は ^{14}C —コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 、ブドウ糖、トリグリセリド、ならびに遊離コレステロールへのとりこみに対して見るべき影響を与えないが、 ^{14}C のケトン体、コレステロールエステル、ならびにリン脂質へのとりこみを増加させている。

Table 5 に示したように、 ^{14}C —酢酸よりの ^{14}C の CO_2 、ブドウ糖ならびに NEFA を除く各分画へのとりこみはアロキサン処理により飢餓時よりも更に減少しているが、 ^{14}C のケトン体ならびに NEFA へのと

Table 6. Effect of succinate on metabolism of acetate in rumen epithelium of alloxan diabetic sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -acetate or -succinate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-acetate	76.1 $\pm$ 3.5**	1.0 $\pm$ 0.7	14.1 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	1.4 $\pm$ 0.1	4.5 $\pm$ 0.2
^{14}C -2-acetate	8.8 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.1	27.0 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 0.1	6.3 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.1	5.1 $\pm$ 0.3	12.8 $\pm$ 0.7
^{14}C -1, 4-succinate	323.9 $\pm$ 15.3	46.0 $\pm$ 2.2	6.1 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.1
^{14}C -1-acetate + succinate***	73.0 $\pm$ 4.1	0.9 $\pm$ 0.0	20.8 $\pm$ 0.6	1.6 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.3
^{14}C -2-acetate + succinate***	8.4 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.1	43.0 $\pm$ 1.9	3.0 $\pm$ 0.1	6.7 $\pm$ 0.4	3.3 $\pm$ 0.1	10.9 $\pm$ 0.4	25.0 $\pm$ 1.2
^{14}C -1, 4-succinate + acetate***	311.8 $\pm$ 15.8	48.1 $\pm$ 2.8	7.8 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	4.8 $\pm$ 0.1

2g of rumen epithelium were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -acetate or -succinate (100 μmoles , 1 μCi). *Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μmCi per g of tissue $\text{N} \pm \text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled succinate or acetate added into incubation flask.

りこみはアロキサン糖尿時がもっとも高い値を示している。 ^{14}C -クエン酸よりの CO_2 , トリグリセリド, ならびにリン脂質へのとりこみは, アロキサン処理によって飢餓時よりも更に減少しているが, ^{14}C のブドウ糖, ケトン体, コレステロールエステルならびに遊離コレステロールへのとりこみは飢餓時よりも更に増加している。アロキサン糖尿時でのクエン酸添加は ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画へのとりこみに対して見るべき影響を与えない。酢酸添加も ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに各脂質分画へのとりこみに対して見るべき影響を与えない。

Table 6 に示したようにアロキサン糖尿時の ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみは正常時よりは減少しているが飢餓時とほぼ同様の値を示している。 ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C のブドウ糖, ケトン体ならびに遊離コレステロールへのとりこみはアロキサン処理によってかなり増加し, 正常および飢餓時より高い値を示している。一方, ^{14}C のトリグリセリドならびにリン脂質へのとりこみはアロキサン処理により正常時および飢餓時よりも更に減少している。アロキサン糖尿時でのコハク酸添加は ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖ならびにトリグリセリドへのとりこみに対しては見るべき影響を与えないが, ^{14}C のケトン体, コレステロールエステル, 遊離コレステロール, NEFA ならびにリン脂質へのとりこみを増加させている。酢酸添加は ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ならびに NEFA へのとりこみに対して見るべき影響を与えていないが, ^{14}C のケトン体, コレステロールエステル, ならびにリン脂質へのとりこみを増加させる。

考 察

ヒツジの第一胃粘膜における酢酸の代謝に対する飢餓およびアロキサン処理の影響についての本報告の結果は, 既に報告されている結果^{3,4,5)}と一致しており, また屠場より得た第一胃粘膜を用いての実験においてクエン酸およびコハク酸添加は酢酸の代謝に対して無影響であり, 酢酸添加はクエン酸およびコハク酸代謝に対して無影響であることを先に認めているが^{2,6,7)}, この事実も本報告の正常時の結果と一致している。従がつて正常時においては, 酢酸の代謝とこれらの TCA サイクルのメンバー物質の代謝とは無関係に行なわれているものと推定される。一方ヒツジの第一粘膜において主として TCA サイクルによって代謝されるものとされているブドウ糖^{4,7,8,9)}, リンエノール焦性ブドウ酸^{5,9)}, およびプロピオン酸^{2,6,10,11)} は正常時においても酢酸の代謝に対して種々の作用をおよぼしている。これらの諸事実より, 正常時においてブドウ糖,

リンエノール焦性ブドウ酸ならびにプロピオン酸はクエン酸に到達する以前の段階にて酢酸の代謝に関与している可能性も考えられる。しかしながらクエン酸およびコハク酸が酢酸の代謝に影響を与えている飢餓時においても、ブドウ糖⁴⁾、リンエノール焦性ブドウ酸⁵⁾、ならびにプロピオン酸¹³⁾は正常時と同様に酢酸よりのケトン体生成を抑制しており、クエン酸およびコハク酸とは全く逆に作用している。また同じ TCA サイクル前駆物質でも酢酸よりコレステロールの生成に対しては正常、飢餓時を問わずブドウ糖およびリンエノール焦性ブドウ酸は促進的に作用するがプロピオン酸¹²⁾¹³⁾は逆に抑制的に作用している。更に本報告の実験におけるクエン酸とコハク酸の酢酸代謝に対する作用は、飢餓時にのみ異なっている点もあるので、これらの TCA サイクル前駆体ならびに TCA サイクルメンバー物質の酢酸代謝に対する作用機作を TCA サイクルとの関連において一義的に説明することは不可能のように思われる。従って今後、個々の物質についてその作用機作を検索することが必要であると考えられる。

正常および飢餓時に認められるプロピオン酸の酢酸代謝に対する作用はアロキサン処理により完全に消失すること¹³⁾、ならびにブドウ糖⁴⁾およびリンエノール焦性ブドウ酸⁵⁾の酢酸代謝に対する諸作用もアロキサン処理によって全く消失するか、或いは正常および飢餓時とはその作用の方向が逆転することなどが認められている。このことは本報告の酢酸代謝とクエン酸代謝の相互作用がアロキサン処理により消失するという結果と一致する面が多い。従ってこれらの物質の酢酸代謝に対する作用にはインシュリンの関与も考えられるが、クエン酸の場合は正常時もアロキサン糖尿時と同様なのでこの点については更に検討を要する。これに対して飢餓時に認められたコハク酸の酢酸代謝に対する諸作用ならびに酢酸のコハク酸代謝に対する作用はアロキサン糖尿時にもそのまま認められているので、この点についてはコハク酸とそれ以外の物とでは根本的に異なっているものと考えられる。アロキサンがコハク酸の代謝系に作用していることは本報告の結果より見て明らかであり、コハク酸よりの CO₂、ブドウ糖、ケトン体ならびに脂質生成系には何等かの形でインシュリンが関与しているものと推定される。しかしながら、酢酸代謝に対するコハク酸の作用にはインシュリンはあまり関与してないものとも推定されるが、この点についてもより詳細な検索が望まれる。

Pennington, R.J.¹⁴⁾ ならびに Pennington R.J. & T.M. Sutherland は、ヒツジの第一胃粘膜においてもプロピオン酸は炭酸固定反応系を経てコハク酸に到達するものと主張している。筆者らは先に種々の実験結果から Pennington らの得た結果がむしろ例外的であり、プロピオン酸の大部分は TCA サイクルによって代謝されるもののその大部分がコハク酸を経由するとは考えられないことを指摘した²⁾⁶⁾⁷⁾¹²⁾。前にも述べたように酢酸の代謝に対する作用がプロピオン酸とコハク酸とは全く逆な面が観察されるだけでなく、プロピオン酸よりのブドウ糖生成は飢餓により減少しアロキサン処理により更に減少しており⁴⁾、この点でも本報告のコハク酸の場合と全く逆になっている。更にまた正常、飢餓およびアロキサン糖尿時のプロピオン酸代謝像²⁾⁴⁾⁶⁾¹²⁾と本報告の同じ条件におけるコハク酸の代謝像はかなり異なっている面が多い。これらの諸事実より見てプロピオン酸よりコハク酸に至る代謝経路がヒツジの第一胃粘膜におけるプロピオン酸の主要な代謝経路であるとは考えにくいので、今後この点についての検索も望まれる。

総 括

ヒツジの第一胃粘膜において酢酸代謝が TCA サイクルと或程度の関係を持つことならびに酢酸代謝と解糖系との関係がアロキサン処理によって変化することなどが知られている。これらの事実に基づき酢酸代謝と TCA サイクルとの関係ならびにその調節機序より明らかにする実験の一端として、正常、飢餓およびアロキサン糖尿ヒツジの第一胃粘膜を用いて酢酸代謝とクエン酸およびコハク酸代謝との相互作用について検索を行なった。

その結果、正常ヒツジの第一胃粘膜においては、コハク酸およびクエン酸は酢酸代謝に対して何等の影響を与えないし、また酢酸もクエン酸およびコハク酸代謝に無影響であるので、これらの物質の代謝はそれぞれ無関係に行なわれているものと考えられる。しかしながら飢餓ヒツジの第一胃粘膜においてはクエン酸およびコハク酸は酢酸よりのケトン体、コレステロール、NEFA ならびにリン脂質の生成を促進する。更にクエン酸は

酢酸よりのブドウ糖の生成を抑制する一方, トリグリセリドの生成を促進する. また酢酸はクエン酸よりのケトン体, トリグリセリドおよびリン脂質の生成を抑制する一方, コハク酸よりのケトン体, コレステロール, およびリン脂質の生成を促進した. この飢餓時に認められた酢酸代謝とクエン酸代謝との間の相互作用はアロキサン処理によって完全に消失するが, 酢酸代謝とコハク酸代謝との間の相互作用はアロキサン糖尿時においても飢餓時と同様に存在する.

以上述べたようにヒツジの第一胃粘膜における酢酸代謝とクエン酸およびコハク酸代謝の相互作用は飢餓およびアロキサン処理によって微妙な変化を示した.

文 献

- 1) Seto, K., and M. Umezu : Tohoku J. Agri. Res., 9 : 151, (1959).
- 2) 瀬戸勝男, 加藤清美, 関口道子, 宮本多栄子, 貴邑富久子, 川上和子, 内藤幸子, 大塚啓子 : 生化学, 42 : 27, (1970).
- 3) 安保佳一, 清水勝義, 佐野洋二, 左久 : 東北大学農生理研究集録, II : 1, (1966).
- 4) 瀬戸勝男, 根来英雄, 貴邑富久子, 吉田三知, 柳瀬昌弘, 川上正澄, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black : 日本内分泌誌, 48 : 476, (1972).
- 5) 瀬戸勝男, 貴邑富久子, 川上正澄, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black : 日本内分泌誌, 49 : 988, (1973).
- 6) 瀬戸勝男, 津田恒之, 梅津元昌 : 生化学, 27 : 213, (1955).
- 7) 瀬戸勝男, 津田恒之, 安保佳一, 梅津元昌 : 生化学, 29 : 17, (1957).
- 8) Pennington, R.J. and W.H. Pfander : Biochem. J., 65 : 109 (1957).
- 9) 瀬戸勝男, 加藤清美, 関口道子, 宮本多栄子, 貴邑富久子, 大塚啓子 : 生化学, 42 : 19, (1970).
- 10) Pennington, R.J. and T.M. Sutherland : Biochem. J., 63 : 618, (1956).
- 11) Pennington, R.J. : Biochem. J., 65 : 534, (1957).
- 12) 瀬戸勝男, 本間京子, 関口道子, 宮本多栄子, 貴邑富久子, 坂西晴三, 大塚啓子 : 生化学, 42 : 120, (1970).
- 13) 瀬戸勝男, 根来英雄, 吉田三知, 川上正澄, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black : 日本内分泌誌, 49 : 592, 1973.
- 14) Pennington, R.J. : Biochem. J., 56 : 410, (1954).