Relationship between Butyrate Metabolism and TCA cycle in Liver Slices of Normal, Starved and Alloxan Diabetic Sheep

Katsuo SETO, Kazuchika YOSHIDA and Masazumi KAWAKAMI

Department of Physiology, Yokohama City University School of Medicine, Yokohama
(Chairman : Professor Masazumi Kawakami)

Shiro ISHIDA, Michiko TAKESHIMA and Makiko KON

Biochemical Research Institute, Kanagawa Rehabilitation Center, Atsugi
(President : Dr. Yui Shirane)

Mizuko YAMAJI and Tsuneyuki TSUDA

Department of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai
(Chairman : Professor Tsuneyuki Tsuda)

Arthur L. BLACK

Department of Physiological Sciences, University of California, Davis
(Chairman : Professor Arthur L. Black)

The influence starvation and alloxan treatment on the butyrate metabolism, and the relationship between the butyrate metabolism and glycolysis were changed by the starvation and alloxan treatment in sheep liver slices have already been reported. Further study was designed to elucidate the relationship between the butyrate metabolism and TCA cycle, and how this relationship was influenced by the starvation and alloxan treatment in sheep liver slices.

The results obtained are summarized as follows.

1) In liver slices of normally fed sheep, the ^{14}C transfer from ^{14}C -butyrate into glucose and NEFA was decreased and the formation of ^{14}C -cholesterol, -triglyceride and -phospholipid from ^{14}C -butyrate was increased by the addition of citrate or succinate. And the formation of $^{14}\text{CO}_2$ and ^{14}C -phospholipid from ^{14}C -citrate was increased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -citrate into glucose, ketone bodies, cholesterol and triglyceride was decreased by the butyrate addition, and the formation of $^{14}\text{CO}_2$ and ^{14}C -ketone bodies from ^{14}C -succinate was increased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -succinate into glucose, cholesterol, triglyceride and phospholipid was decreased by the butyrate addition.

2) In liver slices of starved sheep, the ^{14}C transfer from ^{14}C -butyrate into CO_2 , cholesterol, triglyceride and phospholipid was increased and the formation of ^{14}C -glucose and -NEFA was decreased by the addition of citrate or succinate. And the formation of $^{14}\text{CO}_2$, ^{14}C -glucose and -phospholipid from ^{14}C -citrate was increased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -citrate into ketone bodies, cholesterol and triglyceride was decreased by the butyrate addition, and the formation of $^{14}\text{CO}_2$, ^{14}C -glucose and -ketone bodies from ^{14}C -succinate was increased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -succinate into cholesterol, triglyceride and phospho-

lipid was decreased by the butyrate addition.

3) In liver slices of alloxan diabetic sheep, there were no effects of the citrate addition on the ^{14}C transfer from ^{14}C -butyrate into CO_2 , ketone bodies and lipid fractions and also there were no effects of the butyrate addition on the ^{14}C transfer from ^{14}C -citrate into all these fractions. But the formation of ^{14}C -glucose and -NEFA from ^{14}C -butyrate was decreased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -butyrate into cholesterol, triglyceride and phospholipid was increased by the succinate addition. And the formation of $^{14}\text{CO}_2$ and -ketone bodies from ^{14}C -succinate was increased and the ^{14}C transfer from ^{14}C -succinate into glucose, cholesterol, triglyceride and phospholipid was decreased by the butyrate addition.

4) In liver slices of normally fed, starved and alloxan diabetic sheep, there were no effects of the addition of citrate or succinate on the formation of ^{14}C -ketone bodies from ^{14}C -butyrate, and also there were no effects of the butyrate addition on the ^{14}C -NEFA formation from ^{14}C -citrate or -succinate.

As mentioned above, it may be deduced that there are some relationships between the butyrate metabolism and TCA cycle and these relationships between the butyrate metabolism and TCA cycle were changed by the starvation or alloxan treatment in sheep liver slices.

(See pp. 766~773)

正常、飢餓およびアロキサン糖尿ヒツジの肝スライス における酪酸代謝と TCA サイクルとの関係

横浜市立大学医学部第二生理学教室 (主任 川上正澄教授)

瀬戸 勝男, 吉田 三知
川上 正澄

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 (白根雄偉センター長)

石田 孜郎, 竹島 三知子
昆 真紀子

東北大学農学部家畜生理学教室 (主任 津田恒之教授)

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 (主任 A.L. Black 教授)

Arthur L. Black

(昭和49年1月5日受付)

ヒツジの肝スライスにおける酪酸代謝と TCA サイクルとの相互関係について検索を行ない、酢酸代謝とクエン酸代謝は正常時および飢餓時において相互関係を持つがアロキサン糖尿時には無関係に行なわれていること、ならびに酪酸代謝とコハク酸代謝は正常、飢餓およびアロキサン糖尿時を通じて相互関係を持っていることを認めた。このように肝における酪酸代謝は TCA サイクルと関連を持ちその関係はアロキサン処理などにより変化している。

緒 言

酪酸代謝に TCA サイクルが関与していることはその代謝経路より見て当然のことと考えられるが、反芻動物の肝スライスにおいても酪酸の消費および酸化ならびに酪酸よりのケトン体生成がマロン酸添加によつて阻害されることや、コハク酸添加が酪酸の消費および酸化をかなり促進すると同時に酪酸よりのケトン体生成を抑制することなどから、酪酸代謝と TCA サイクルの間には密接な関係があると報告されている¹⁾²⁾。一方ヒツジの肝スライスにおける酪酸の消費およびそれよりの CO_2 、ブドウ糖、ケトン体ならびに種々の脂質分画の生成が飢餓或いはアロキサン処理によつて変化することやまた酪酸代謝と解糖系との関係が飢餓およびアロキサン処理の影響を受けることなどが報告されている^{3)~6)}。従つて酪酸代謝と TCA サイクルとの関係も飢餓およびアロキサン処理によつて変化するのではないかと考えられる。

この点をより明らかにするために正常、飢餓およびアロキサン糖尿ヒツジの肝スライスを用いてクエン酸或るいはコハク酸添加時の酪酸よりの CO_2 、ブドウ糖、ケトン体および種々の脂質分画の生成に対する影響ならびにクエン酸或るいはコハク酸代謝に対する酪酸添加の影響について観察を行ない酪酸代謝とクエン酸或るいはコハク酸代謝との間の相互関係が飢餓またはアロキサン処理によつて変化する場合があることを認めたので報告する。

材料および方法

材料および方法はすべて前報⁵⁾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 の濃厚飼料を毎日午前 8 時に給与し、これを正常飼育群とした。また 7 日間完全に絶食させたものを飢餓群とした。更に体重 1 kg あたり 80mg のアロキサンを生理的食塩水 50ml とともに頸静脈内に投与したものをアロキサン糖尿群とし投与 4 日後に実験に供した。前報⁷⁾でも述べたように正常群の血糖値が 60mg/dl 前後であるのに対してこのアロキサン処理により屠殺直前の血糖値は 200mg/dl 以上になりかなりの上昇を示した。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肝を採取し、1.15% の塩化カリ溶液にひたしはば 0.5×0.5×0.04cm のスライスとした。その 2g を ¹⁴C-1-酪酸、¹⁴C-2-酪酸、¹⁴C-3-酪酸（以下三者を合わせて ¹⁴C 酪酸と略記）、¹⁴C-1, 5-クエン酸（以下 ¹⁴C-クエン酸と略記）或るいは ¹⁴C-1, 4-コハク酸（以下 ¹⁴C-コハク酸と略記）の Na 塩 100μmoles (1μCi) を含む Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (pH 7.4) 10ml とともに気相 O₂:CO₂=95:5 のもとに 38℃ 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、コハク酸或るいは酪酸を添加する場合もやはりそれらの Na 塩 100μmoles を含むように調整した。

Incubation 終了後、前報⁵⁾に記載或るいは引用した方法により CO₂、ブドウ糖、ケトン体ならびに脂質各分画を分離し、各分画の放射活性をやはり前報の方法⁵⁾により測定し、各分画への ¹⁴C のとりこみも前報⁵⁾にならい組織窒素 100mg あたりの μmCi で表現した。表に示したすべての値は 5 例の動物について行なった実験結果の平均 μmCi ±標準偏差である。

結 果

Table 1 に示したように正常ヒツジの肝スライスにおいてクエン酸添加は ¹⁴C-酪酸よりの ¹⁴C のブド

Table 1. Relationship between butyrate and citrate metabolism in liver slices of normally fed sheep

Addition	Transfer of ¹⁴ C from ¹⁴ C-butyrate or -citrate into							
	CO ₂	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
¹⁴ C-1-B	310.7±11.3**	20.8±0.7	16.2±0.6	2.8±0.1	3.3±0.1	2.9±0.1	13.6±0.4	9.3±0.3
¹⁴ C-1-B+Ci***	304.3±12.6	10.6±0.4	15.9±0.7	4.3±0.2	4.3±0.1	4.4±0.2	8.5±0.3	16.2±0.5
¹⁴ C-2-B	213.4±9.2	76.1±2.4	36.9±1.1	8.8±0.4	8.9±0.3	7.6±0.3	32.8±1.0	19.7±0.9
¹⁴ C-2-B+Ci***	205.5±9.4	52.4±2.1	35.5±1.3	12.9±0.5	12.1±0.4	11.9±0.4	16.2±0.6	30.2±1.0
¹⁴ C-3-B	273.3±11.9	23.0±0.9	36.1±1.3	3.1±0.1	4.0±0.1	2.8±0.1	22.5±0.7	14.3±0.7
¹⁴ C-3-B+Ci***	280.1±13.2	13.7±0.5	37.2±1.7	4.7±0.2	5.1±0.2	3.9±0.1	11.5±0.4	29.1±1.0
¹⁴ C-Ci	261.2±11.3	57.2±1.6	0.5±0.0	1.2±0.0	1.4±0.0	0.7±0.0	0.1±0.0	6.8±0.2
¹⁴ C-Ci+B***	328.6±14.1	36.9±1.5	0.1±0.0	0.5±0.0	0.8±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	9.9±0.4

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ¹⁴C-1-butyrate (¹⁴C-1-B), ¹⁴C-2-butyrate (¹⁴C-2-B), ¹⁴C-3-butyrate (¹⁴C-3-B) or ¹⁴C-1, 5-citrate (¹⁴C-Ci) (100μmoles, 1μCi). *Fraction A, B, C, D and E were composed of cholesterol ester, triglyceride, free cholesterol, NEFA and phospholipid, respectively. **Mean μmCi per 100mg tissue N±S.D. in 5 animals. ***100μmoles of unlabelled citrate (Ci) or butyrate (B) added into incubation flask.

ウ糖ならびに非エステル型脂肪酸 (以下 NEFA と略記) へのとりこみを減少させる一方, ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを増加させるが, ^{14}C の CO_2 およびケトン体へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない. また正常時において酪酸添加は ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 ならびにリン脂質へのとりこみを増加させる. 一方 ^{14}C のブドウ糖, ケトン体, コレステロールエステル, 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を減少させるが, ^{14}C の NEFA へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない.

Table 2 に示したように正常ヒツジの肝スライスにおいてコハク酸添加は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のブドウ

Table 2. Relationship between butyrate and succinate metabolism in liver slices of normally fed sheep

Addition	Transfer or ^{14}C from ^{14}C -butyrate or -succinate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-B	302.1 $\pm$ 12.0**	19.8 $\pm$ 0.6	16.4 $\pm$ 0.8	2.9 $\pm$ 0.1	3.2 $\pm$ 0.1	2.8 $\pm$ 0.1	13.3 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 0.4
^{14}C -1-B+Su***	314.4 $\pm$ 12.9	9.7 $\pm$ 0.3	15.8 $\pm$ 0.7	4.2 $\pm$ 0.2	24.7 $\pm$ 0.2	5.1 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.3	21.8 $\pm$ 0.7
^{14}C -2-B	208.3 $\pm$ 9.6	73.0 $\pm$ 3.1	38.1 $\pm$ 1.3	9.2 $\pm$ 0.4	9.0 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.2	31.8 $\pm$ 1.2	20.5 $\pm$ 1.0
^{14}C -2-B+Su***	213.7 $\pm$ 10.3	38.8 $\pm$ 1.3	37.9 $\pm$ 1.8	18.0 $\pm$ 0.9	18.3 $\pm$ 0.5	13.2 $\pm$ 0.6	12.8 $\pm$ 0.4	37.9 $\pm$ 1.2
^{14}C -3-B	281.2 $\pm$ 14.0	24.3 $\pm$ 1.1	35.2 $\pm$ 1.5	3.2 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.1	21.9 $\pm$ 0.1	15.0 $\pm$ 0.7
^{14}C -3-B+Su***	292.8 $\pm$ 15.2	10.4 $\pm$ 0.3	36.7 $\pm$ 1.3	5.2 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.2	28.1 $\pm$ 0.3	33.8 $\pm$ 1.2
^{14}C -Su	366.1 $\pm$ 13.1	62.5 $\pm$ 2.9	0.3 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.0	1.5 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	8.6 $\pm$ 0.3
^{14}C -Su+B***	450.2 $\pm$ 17.3	22.1 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	3.1 $\pm$ 0.1

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -1-butyrate (^{14}C -1-B), ^{14}C -2-butyrate (^{14}C -2-B), ^{14}C -3-butyrate (^{14}C -3-B) or ^{14}C -1, 4-succinate (^{14}C -Su) (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 100mg tissue $\pm$ S.D. in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled succinate (Su) or butyrate (B) added into incubation flask.

糖および NEFA へのとりこみを減少させる一方 ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを増加させているが, ^{14}C の CO_2 およびケトン体へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない. また正常時において酪酸添加は ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみを増加させる一方 ^{14}C のブドウ糖, 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ならびにリン脂質へのとりこみを減少させているが, ^{14}C の NEFA へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない.

Table 3 に示したように飢餓ヒツジの肝スライスにおいても正常時と同様にクエン酸添加は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のブドウ糖ならびに NEFA へのとりこみを減少させ, ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを増加させ, ^{14}C のケトン体へのとりこみに対しては見るべき影響を与えてない. しかしながら 正常時無影響であった ^{14}C -酪酸よりの CO_2 へのとりこみは飢餓時ではクエン酸添加により増加するようになる. 飢餓時においても正常時と同様に酪酸添加は ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみを増加させ, ^{14}C のケトン体, コレステロールエステル, トリグリセリドならびにリン脂質へのとりこみを減少させ, ^{14}C の NEFA へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない. しかしながら, ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C のブドウ糖ならびにリン脂質へのとりこみ

Table 3. Relationship between butyrate and citrate metabolism in liver slices of starved sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -butyrate or -citrate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-B	$173.2 \pm 7.3^{**}$	3.0 ± 0.1	14.2 ± 0.4	2.0 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.8 ± 0.0	1.9 ± 0.1	3.4 ± 0.1
^{14}C -1-B + Ci***	264.5 ± 12.4	1.5 ± 0.0	14.7 ± 0.6	3.1 ± 0.1	0.6 ± 0.0	1.4 ± 0.0	1.2 ± 0.0	6.1 ± 0.2
^{14}C -2-B	114.8 ± 4.4	5.0 ± 0.2	32.5 ± 1.6	8.1 ± 0.3	1.0 ± 0.0	3.2 ± 0.1	5.1 ± 0.2	13.0 ± 0.5
^{14}C -2-B + Ci***	186.7 ± 6.2	2.8 ± 0.1	33.3 ± 1.7	11.9 ± 0.5	2.6 ± 0.1	4.8 ± 0.2	1.8 ± 0.1	19.1 ± 0.6
^{14}C -3-B	69.3 ± 2.7	4.0 ± 0.1	25.3 ± 1.0	2.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.9 ± 0.0	4.2 ± 0.1	8.0 ± 0.3
^{14}C -3-B + Ci***	137.5 ± 4.8	2.9 ± 0.1	26.1 ± 1.2	3.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.7 ± 0.0	3.0 ± 0.1	13.1 ± 0.5
^{14}C -Ci	221.1 ± 9.4	73.0 ± 3.3	1.0 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.5 ± 0.0	5.1 ± 0.2
^{14}C -Ci + B***	277.0 ± 12.2	126.8 ± 4.6	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.0	16.6 ± 0.7

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -1-butyrate (^{14}C -1-B), ^{14}C -2-butyrate (^{14}C -2-B), ^{14}C -3-butyrate (^{14}C -3-B) or ^{14}C -1, 5-citrate (^{14}C -Ci) (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 100mg tissue $\text{N} \pm \text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled citrate (Ci) or butyrate (B) added into incubation flask.

Table 4. Relationship between butyrate and succinate metabolism in liver slices of starved sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -butyrate or -succinate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-B	$181.3 \pm 8.6^{**}$	3.1 ± 0.1	14.7 ± 0.6	1.8 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.0	2.0 ± 0.0	3.6 ± 0.2
^{14}C -1-B + Su***	309.8 ± 13.7	0.8 ± 0.0	15.1 ± 0.7	4.6 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.0	7.5 ± 0.3
^{14}C -2-B	109.4 ± 4.8	5.2 ± 0.2	31.3 ± 1.8	8.5 ± 0.4	1.1 ± 0.0	3.1 ± 0.1	4.8 ± 0.2	12.6 ± 0.4
^{14}C -2-B + Su***	163.2 ± 7.3	3.5 ± 0.1	30.8 ± 1.3	13.1 ± 0.6	3.8 ± 0.1	8.9 ± 0.3	0.5 ± 0.0	18.8 ± 0.7
^{14}C -3-B	70.1 ± 3.3	3.9 ± 0.1	31.7 ± 1.8	2.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.9 ± 0.0	4.3 ± 0.2	8.4 ± 0.4
^{14}C -3-B + Su***	96.7 ± 4.0	1.7 ± 0.0	32.0 ± 1.6	7.9 ± 0.3	1.8 ± 0.0	2.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	13.1 ± 0.6
^{14}C -Su	214.8 ± 7.9	74.9 ± 3.4	0.9 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.4 ± 0.0	4.8 ± 0.2
^{14}C -Su + B***	301.1 ± 12.5	112.6 ± 4.7	2.7 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0	1.9 ± 0.0

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -1-butyrate (^{14}C -1-B), ^{14}C -2-butyrate (^{14}C -2-B), ^{14}C -3-butyrate (^{14}C -3-B) or ^{14}C -1, 4-succinate (^{14}C -Su) (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 100mg tissue $\text{N} \pm \text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled succinate (Su) or butyrate (B) added into incubation flask.

は飢餓時では酪酸添加によって正常時とは逆に増加するようになる。

Table 4 に示したように飢餓ヒツジの肝スライスにおいても正常時と同様にコハク酸添加は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のブドウ糖ならびに NEFA へのとりこみを減少させ, ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを増加させ, ^{14}C のケトン体へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない。しかしながら正常時無影響であつた ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみは飢餓時ではコハク酸添加によつて増加するようになる。飢餓時においても正常時と同様に酪酸添加は ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 ならびにケトン体へのとりこみを増加させ, ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを減少させ, ^{14}C の NEFA へのとりこみに対しては見るべき影響を与えていない。しかしながら ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C のブドウ糖へのとりこみは飢餓時では酪酸添加によって正常時とは逆に増加するようになる。

Table 5 に示したように正常或るいは飢餓時において認められたクエン酸の酪酸代謝に対する諸作用は

Table 5. Relationship between butyrate and citrate metabolism in liver slices of alloxan diabetic sheep

Addition	Transfer of ^{14}C -butyrate or -citrate							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-B	250.6±12.9**	9.2±0.8	21.1±0.8	1.4±0.1	0.8±0.0	1.3±0.0	1.2±0.0	3.3±0.2
^{14}C -1-B + Ci***	253.1±12.4	10.0±0.9	22.3±1.2	1.3±0.0	0.9±0.0	1.2±0.0	1.2±0.0	3.5±0.2
^{14}C -2-B	167.8±8.5	21.8±1.3	41.3±1.9	2.6±0.1	1.9±0.1	1.5±0.1	1.4±0.0	17.8±0.9
^{14}C -2-B + Ci***	162.2±7.1	20.2±1.5	42.6±2.2	2.4±0.2	2.0±0.1	1.4±0.0	1.3±0.0	18.3±0.8
^{14}C -3-B	119.5±5.4	10.8±0.5	36.4±1.2	2.1±0.1	1.0±0.0	1.3±0.0	0.8±0.0	8.1±0.5
^{14}C -3-B + Ci***	112.8±5.7	10.4±0.6	37.8±1.6	2.0±0.1	0.9±0.0	1.3±0.0	0.9±0.0	8.6±0.4
^{14}C -Ci	196.6±9.3	91.7±5.6	1.5±0.0	1.3±0.0	0.2±0.0	0.8±0.0	1.8±0.1	1.5±0.0
^{14}C -Ci + B***	185.3±10.4	86.8±7.3	1.4±0.0	1.3±0.0	0.3±0.0	0.9±0.0	1.7±0.0	1.6±0.0

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -1-butyrate (^{14}C -1-B), ^{14}C -2-butyrate (^{14}C -2-B), ^{14}C -3-butyrate (^{14}C -3-B) or ^{14}C -1, 5-citrate (^{14}C -Ci) (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 100mg tissue $\text{N}\pm\text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled citrate (Ci) or butyrate (B) added into incubation flask.

アロキサン処理により消失し, アロキサン 糖尿ヒツジの肝スライスにおいてはクエン酸添加は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに脂質各分画へのとりこみに対して見るべき影響を与えていない。また正常時および飢餓時において認められた酪酸のクエン酸代謝に対する諸作用もアロキサン処理によつて消失し, アロキサン 糖尿ヒツジの肝スライスにおいては酪酸添加は ^{14}C -クエン酸よりの ^{14}C の CO_2 , ブドウ糖, ケトン体ならびに脂質各分画へのとりこみに対して見るべき影響を与えない。

しかしながら Table 6 に示したようにアロキサン 糖尿ヒツジの肝スライスにおいてもコハク酸添加は正常時および飢餓時と同様に ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のブドウ糖ならびに NEFA へのとりこみを減少させる一方, ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを増加させ, ^{14}C のケトン体へのとりこみに対して見るべき影響を与えていない。飢餓時で増加した ^{14}C -酪

Table 6. Relationship between butyrate and succinate metabolism in liver slices of alloxan diabetic sheep

Addition	Transfer of ^{14}C from ^{14}C -butyrate or -succinate into							
	CO_2	Glucose	Ketone bodies	Fraction A*	Fraction B*	Fraction C*	Fraction D*	Fraction E*
^{14}C -1-B	247.9 $\pm$ 12.3**	8.7 $\pm$ 0.6	20.4 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	1.4 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	3.1 $\pm$ 0.2
^{14}C -1-B+Su***	250.7 $\pm$ 13.8	4.2 $\pm$ 0.2	19.3 $\pm$ 1.1	7.2 $\pm$ 0.3	9.3 $\pm$ 0.4	7.9 $\pm$ 0.4	0.3 $\pm$ 0.0	19.7 $\pm$ 0.8
^{14}C -2-B	169.9 $\pm$ 7.4	22.3 $\pm$ 1.0	41.7 $\pm$ 2.1	2.5 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.0	1.6 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.0	17.1 $\pm$ 0.7
^{14}C -2-B+Su***	160.5 $\pm$ 8.6	9.7 $\pm$ 0.4	42.3 $\pm$ 2.0	5.4 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.3	6.1 $\pm$ 0.3	0.1 $\pm$ 0.0	42.5 $\pm$ 2.0
^{14}C -3-B	112.3 $\pm$ 5.2	11.3 $\pm$ 0.6	35.3 $\pm$ 1.6	2.2 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.0	1.4 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0	8.6 $\pm$ 0.4
^{14}C -3-B+Su***	110.9 $\pm$ 5.6	4.4 $\pm$ 0.2	34.5 $\pm$ 1.7	9.1 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	18.3 $\pm$ 0.7
^{14}C -Su	253.7 $\pm$ 13.0	141.4 $\pm$ 6.7	1.0 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	2.8 $\pm$ 0.1
^{14}C -Su+B***	418.2 $\pm$ 20.1	31.3 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0

Slices (2g) were incubated in Krebs-Ringer bicarbonate buffer with ^{14}C -1-butyrate (^{14}C -1-B), ^{14}C -2-butyrate (^{14}C -2-B), ^{14}C -3-butyrate (^{14}C -3-B) or ^{14}C -1, 4-succinate (^{14}C -Su) (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 100mg tissue $\text{N}\pm\text{S.D.}$ in 5 animals. ***100 μmoles of unlabelled succinate (Su) or butyrate (B) added into incubation flask.

酸よりの ^{14}C の CO_2 へのとりこみはアロキサン糖尿時では正常時と同様にコハク酸添加の影響を受けない。またアロキサン糖尿時においても正常および飢餓時と同様に酪酸添加は ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C の CO_2 , ならびにケトン体へのとりこみを増加させ、 ^{14}C の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ならびにリン脂質へのとりこみを減少させ、 ^{14}C の NEFA へのとりこみに対して見るべき影響を与えない。しかしながら ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C のブドウ糖へのとりこみはアロキサン糖尿時では飢餓時とは逆に酪酸添加によつて減少するようになる。

考 按

正常および飢餓の肝スライスにおいて焦性ブドウ酸および乳酸添加は酪酸代謝に対して無影響であるが、ブドウ糖およびリンエノール焦性ブドウ酸は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のブドウ糖および NEFA へのとりこみを減少させる一方、NEFA を除く脂質分画への ^{14}C のとりこみを増加させ、更に飢餓時では ^{14}C の CO_2 へのとりこみも増加させることなどが報告されているが⁵⁾⁶⁾、このブドウ糖およびリンエノール焦性ブドウ酸添加の酪酸代謝に対する諸作用ならびにその作用の飢餓による変化も全て本報告の正常および飢餓ヒツジの肝スライスにおけるクエン酸およびコハク酸添加の酪酸代謝に対する諸作用と同様である。また正常および飢餓ヒツジの肝スライスにおける酢酸代謝⁵⁾⁸⁾⁹⁾およびプロピオン酸代謝¹⁰⁾¹¹⁾に対するブドウ糖およびリンエノール焦性ブドウ酸添加の諸作用とクエン酸およびコハク酸添加の諸作用も同一であることが既に認められている。従つてヒツジの肝スライスにおいてこれらの低級脂肪酸代謝に対してブドウ糖およびリンエノール焦性ブドウ酸はクエン酸或いはコハク酸など何れにしても TCA サイクルに到達することによつてその作用を出現させているものと推定される。またこの場合焦性ブドウ酸および乳酸はこの条件では TCA サイクルに到達する量がきわめて少ないのではないかと推定される。

一方ヒツジの肝スライスにおいて正常時および飢餓時で認められたブドウ糖およびリンエノール焦性ブド

ウ酸添加の酪酸代謝に対する諸作用はアロキサン処理によつて完全に消失することが報告されているが⁹⁾, この事実も本報告のクエン酸添加の酪酸代謝に対する作用と全く一致している. 更にヒツジの肝スライスならびに第一胃粘膜において認められたブドウ糖, リンエノール焦性ブドウ酸およびクエン酸添加の酢酸代謝ならびにプロピオン酸代謝に対する諸作用も大体においてアロキサン処理によつて消失する傾向にあることも既に認められているので, 一般的にブドウ糖, リンエノール焦性ブドウ酸ならびにクエン酸添加の低級脂肪酸代謝に対する作用には何ら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.

これに対してヒツジの肝スライスならびに第一胃粘膜において正常時および飢餓時で認められたコハク酸添加の酢酸代謝或いはプロピオン酸代謝に対する作用はアロキサン処理によつても消失しないことがすでに認められているが⁹⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾, この事実も本報告のアロキサン糖尿ヒツジでのコハク酸添加の酪酸代謝に対する作用と一致しているので, コハク酸添加のこれらの低級脂肪酸代謝に対する作用にはインシュリンが関与していないものと考えられる.

一方正常および飢餓ヒツジの肝スライスならびに第一胃粘膜において認められた酢酸或いはプロピオン酸添加のクエン酸代謝に対する作用はアロキサン処理によつて消失することが既に観察されているが⁹⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾, この事実も本報告のヒツジの肝スライスでの酪酸添加のクエン酸代謝に対する作用と一致しているので, 一般的にこれらの低級脂肪酸添加のクエン酸代謝に対する作用にはインシュリンが関与しているものと推定される. しかしながらヒツジの肝スライス或いは第一胃粘膜における酢酸およびプロピオン酸添加のコハク酸代謝に対する作用はアロキサン糖尿時でも正常時と同様に存在していることが既に認められているが⁹⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾, この事実も本報告のヒツジの肝スライスにおける酪酸添加のコハク酸代謝に対する作用と一致しているので, 一般的にこれらの低級脂肪酸添加のコハク酸代謝に対する作用にはインシュリンが関与していないものと考えられる. 但しこの際ヒツジの肝スライスにおいては正常, 飢餓およびアロキサン糖尿時を通じて酢酸およびプロピオン酸添加は ^{14}C -コハク酸よりの ^{14}C のケトン体へのとりこみを減少させており⁹⁾⁽¹¹⁾, 本報告の酪酸添加のコハク酸よりのケトン体生成に対する影響とは全条件を通じて全く逆になっている. 奇数脂肪酸で且つ糖生成的に働くとされているプロピオン酸添加¹⁶⁾と酪酸添加との作用が異なることは当然とも考えられるが酢酸がプロピオン酸と同様に作用し酪酸と逆に働いている点はやや注目すべき現象であると考えられる. これはおそらくヒツジの肝スライスにおける酢酸と酪酸の代謝像の相違によるものと推定されるがこの点については更に検討を要するものと考えられる.

ヒツジの肝スライスにおいて ^{14}C -酢酸よりの ^{14}C のケトン体へのとりこみはブドウ糖⁹⁾, リンエノール焦性ブドウ酸⁹⁾, クエン酸およびコハク酸⁹⁾添加によつて減少しているのに対し ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のケトン体へのとりこみは全条件を通じてブドウ糖⁹⁾, リンエノール焦性ブドウ酸⁹⁾, クエン酸或いはコハク酸添加の影響を受けてないので, 酪酸よりのケトン体生成は解糖系或いは TCA サイクルと無関係に行なわれているようにも考えられる. しかしながら先に筆者らはウシの肝スライスにおいてはコハク酸添加は無標識の酪酸よりのケトン体生成を抑制することを認めている²⁾. この点については動物の種類の差によるものかあるいは酪酸とコハク酸を共存させたことによつて内因性のケトン体生成量が変化したことによるものか更に検討を要するものと考えられる.

また正常および飢餓ヒツジの肝スライスにおいてプロピオン酸添加は ^{14}C -酪酸よりの ^{14}C のケトン体, 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を減少させ, このプロピオン酸添加の作用はアロキサン処理によつて消失することが報告されているが⁹⁾, このプロピオン酸添加の酪酸代謝に対する作用ならびにそのアロキサン処理による変化は本報告のコハク酸添加の酪酸代謝に対する作用と全く異なっている. この場合反芻動物の肝においてもプロピオン酸は CO_2 固定反応系を経てコハク酸に到達して TCA サイクルによつて代謝されるものとされているので¹⁷⁾, プロピオン酸はコハク酸に到達する以前の段階において酪酸代謝に作用しているものと推定されるがこの点についても更に詳細な検索が必要であると考えられる.

結 語

酪酸代謝と TCA サイクルとの関係ならびにその調節機序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肝スライスをを用いて酪酸代謝とクエン酸代謝あるいはコハク酸代謝との相互関係について検索を行なつた。

その結果、正常および飢餓ヒツジの肝スライスにおいてクエン酸あるいはコハク酸添加は酪酸よりのブドウ糖および NEFA の生成を減少させる一方、コレステロール、トリグリセリドおよびリン脂質の生成を増加させている。また正常時においてはクエン酸あるいはコハク酸添加は酪酸よりの CO_2 生成に対して無影響であるが飢餓時においては酪酸よりの CO_2 生成を増加させる。正常および飢餓時において酪酸添加はクエン酸およびコハク酸よりの CO_2 の生成を増加させる一方コレステロールならびにトリグリセリドの生成を減少させているが、正常時において酪酸添加はクエン酸およびコハク酸よりのブドウ糖の生成を減少させるが飢餓時では逆に増加させている。また正常および飢餓時を通じて酪酸添加はクエン酸よりのケトン体生成を減少させるがコハク酸よりのケトン体生成を増加させる一方、クエン酸よりのリン脂質生成を増加させるがコハク酸よりのリン脂質生成を減少させている。

これらのクエン酸添加の酪酸代謝に対する諸作用ならびに酪酸添加のクエン酸代謝に対する諸作用はアロキサン処理によつて消失するので、この酪酸代謝とクエン酸代謝の相互関係にはインシュリンが関与しているものと考えられる。しかしアロキサン糖尿時においてもコハク酸添加の酪酸代謝に対する諸作用ならびに酪酸添加のコハク酸代謝に対する諸作用は正常時と同じように存在しているので、この酪酸代謝とコハク酸代謝との相互関係にはインシュリンがあまり関与していないものと考えられる。更に正常、飢餓およびアロキサン糖尿時を通じてクエン酸およびコハク酸添加は酪酸よりのケトン体生成に対して見るべき影響を与えてないので酪酸よりのケトン体生成は TCA サイクルと無関係に行なわれていると考えられる。

以上、述べたようにヒツジの肝スライスにおける酪酸代謝と TCA サイクルとの間には種々の関係が存在し、その諸関係は飢餓およびアロキサン処理によつて変化すると考えられる。

本実験の遂行にあたり脂質分画の分離および放射活性の測定について種々御教示賜りました東北大学農学部 庄司芳男博士に深く心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 瀬戸勝男, 津田恒之, 梅津元昌: 生化学, 28: 143, (1956).
- 2) Seto, K., Okabe, I., Tsuda, T. and M. Umez: Tohoku J. Agri. Res., 9: 133, (1959).
- 3) Leng, R.A. and E.F. Annison: Biochem. J., 86: 319, (1963).
- 4) Hidari, H., Sano, Y., and K. Ambo: Tohoku J. Agri. Res., 19: 106, (1968).
- 5) 瀬戸勝男, 根来英雄, 吉田三知, 毛利元彦, 真中幹彦, 川上正澄: A.L. Black 日本生理誌, 34: 746, (1972).
- 6) 瀬戸勝男, 竹島三知子, 昆真紀子, 佐久間康夫, 川上正澄: A.L. Black 臨床化学, 2: 216, (1973).
- 7) 瀬戸勝男, 樋口 隆, 川上正澄, 竹島三知子, 昆真紀子, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black: 日本内分泌誌, 49: 1280, (1973).
- 8) 瀬戸勝男, 大塚啓子, 柳瀬昌弘, 佐久間康夫, 川上正澄, A.L. Black: 臨床化学, 2: 121, (1973).
- 9) 瀬戸勝男, 石田孜郎, 竹島三知子, 昆真紀子, 真中幹彦, 川上正澄, A.L. Black: 臨床化学, 2: 3号, (1974).
- 10) 瀬戸勝男, 根来英雄, 真中幹彦, 毛利元彦, 佐久間康夫, 川上正澄, A.L. Black: 日本生理誌, 35: 179, (1973).
- 11) 瀬戸勝男, 石田孜郎, 真中幹彦, 川上正澄, A.L. Black: 日本生理誌, 46: 掲載予定, (1974).
- 12) 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).
- 13) 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).
- 14) 瀬戸勝男, 大塚啓子, 樋口隆, 石田孜郎, 竹島三知子, 川上正澄, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black: 日本内分泌誌, 50: 1号, (1974).
- 15) 瀬戸勝男, 大塚啓子, 樋口 隆, 石田孜郎, 竹島三知子, 昆真紀子, 山路瑞子, 津田恒之, A.L. Black: 日本内分泌誌, 50: 1号, (1974).
- 16) Leng, R.A., Steel, J.W. and J.R. Luick: Biochem. J., 103: 785, (1967).
- 17) 柴田章夫, 安保佳一: 医学と生物学, 58: 177, (1961).