ラット副腎脂質に関する研究

——特に ACTH, 下垂体摘出及び
Aminoglutethimide の影響——

東京大学医学部内科第三講座

宮 地 幸 隆

The effects of ACTH, aminoglutethimide and hypophysectomy
on the rat adrenal lipids

Yukitaka MIYACHI

The Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
University of Tokyo, Hongo, Tokyo, Japan

The lipid patterns in the adrenal glands of rats with the adrenocortical steroidogenesis stimulated by ACTH or inhibited by hypophysectomy or by aminoglutethimide (AGT) were compared with those in intact rats. The administration of ACTH caused the gradual decrease in the concentration of cholesteryl ester with the preferential decrease in the proportion of arachidonic acid. The deposition of cholesteryl ester was observed in the adrenal glands of both hypophysectomized and AGT treated rats. Hypophysectomy was accompanied by the increase in the proportion of 16:0 and 18:0 and the decrease of 18:2 and 20:3, while AGT administration caused the increase in the proportion of 20:4 and the decrease of 22:6 in the cholesteryl fraction.

ACTH and AGT treatments or hypophysectomy resulted in minor alterations of the concentrations and fatty acid compositions of triglyceride and phospholipid.

The marked differences in the concentration as well as fatty acid compositions of cholesteryl ester under the stimulated or inhibited adrenal steroidogenesis suggest the important role of fatty acids esterified with cholesterol in the steroid hormone synthesis.

緒 言

人,⁽¹⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽¹⁷⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³⁷⁾ 犬,⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽¹⁷⁾ ラット,⁽⁷⁾⁽¹⁷⁾⁽⁴⁰⁾ などの副腎は牛,⁽⁵⁾ 羊,⁽¹⁰⁾ と異なり, いわゆる fatty adrenal と呼ばれる如く多量の脂質を含有している. なかでもラット副腎は副腎重量の2~6%のcholesterolを含み総cholesterolの約80%はester型として存在し, しかもその脂酸構成上高級不飽和脂酸に富むという特徴を有する.⁽¹⁷⁾

一方副腎steroid hormoneはmitochondriaのfree cholesterolから合成されることが報告⁽²²⁾されているがACTH投与下に副腎steroid hormoneの合成分泌が亢進する際に副腎内で減少するのは, Cholesteryl esterあつてfree cholesterolでないことはよく知られた事実である. この際副腎に特有な高級不飽和脂酸のcholesteryl esterが如何なる変動を示すかは極めて興味ある問題であるがこれまでに詳細に

検討された成績は乏しい。

この研究では、副腎 steroid hormone 生合成が、ACTH 投与により亢進している時或いは下垂体摘出及び aminoglutethimide 投与により抑制されている時ラット副腎内に減少又は増量してくる cholesteryl ester の脂酸構成の変動を検討した。

又ラット副腎には cholesterol 以外にも triglyceride, phospholipid, free fatty acid 等の脂質が含有されており、これら各脂質の ACTH 投与、下垂体摘出及び aminoglutethimide 投与時の変動もあわせて検討した。尚 aminoglutethimide はラット副腎に於て steroid 合成を阻止し cholesterol の蓄積及び内因性の ACTH の増量を来たことが知られている。⁽¹¹⁾

実 験 方 法

1. 実験動物

体重 150～200gm の Wistar-Imamichi 系雄ラット (動物繁殖研究所, 大宮市) を Oriental 固形食にて室温 22℃ の飼育室で一週間飼育后以下の 4 群の実験に使用した。

(1) 対照としての無処置正常ラット群。

(2) ACTH 50mu/100gm body weight を大腿静脈に投与直后及び 30分, 60分, 240分経過せる 4 群と対照としての正常ラット群。

(3) 48時間前に下垂体摘出したラットに生理的食塩水或いは ACTH 50mu/100gm body weight を大腿静脈に投与后 4 時間経過せる 2 群。

(4) aminoglutethimide (AGT) 20mg 或いは vehicle のみを朝夕 2 回 3 日ないし 5 日間皮下注射せる 3 群。

(1)～(3)の各ラットは上記処置終了後 hexobarbital sodium (10mg/100gm body weight) 腹腔内投与による麻酔下に断頭出血致死させ直ちに開腹して両側副腎を摘出、周囲の脂肪及び結合組織を除去した後各群毎にプールし副腎内脂質の測定をおこなった。(4)の実験では AGT 最終投与 1 時間後に各ラット毎に Lipscomb-Nelson の術式⁽²⁵⁾に従い左副腎静脈血を採取して corticosterone を測定し一方摘出した副腎及び末梢血については脂質の分析を行った。ACTH は U.S.P. corticotropin reference standard (3rd International standard) を用いた。AGT は CIBA 製薬 (Summit, N.J., U.S.A.) の Dr. J. J. Chart により提供され acetate buffer, pH 4.0 に 20mg/0.5ml になるように溶解后実験に使用した。

2. 脂質の測定

a. 抽出 Folch の方法⁽¹⁶⁾に従い約 20 倍量の chloroform:methanol (2:1 v/v) 混合溶媒を用いプールせる副腎又は血漿より脂質を抽出した。

b. 定量分析 抽出した脂質の一部を用いて総 cholesterol を Zak 法⁽⁴¹⁾, cholesteryl ester は薄層 chromatography 法⁽⁴⁾にて cholesteryl ester と free cholesterol に分離后夫々 Zak 法で測定し ester 比を求めこれと総 cholesterol から計算した。triglyceride は Van Handel 法⁽³⁸⁾, phospholipid は Bertlett 法⁽²⁾, free fatty acid は Itaya-Ui 法⁽²³⁾にて定量した。

c. 脂酸構成 Rhodamin 6 G 添加 Kieselgel HF₂₅₄ (Merck, Darmstadt) の薄層プレートを用いて petroleum ether:ether:acetic acid 80:20:1 V/V/V 系⁽⁴⁾で展開后 cholesteryl ester, triglyceride, phospholipid 相当各分画を夫々 Stoffel 法⁽³⁶⁾にて methyl 化し hydrogen flame ionization detector 付 gas chromatograph (島津 GCIB) で 15% diethyleneglycolsuccinate column を用いて分析した。各脂酸は N. I. H. 及び Hormel Institute (Austin, Minnesota, U.S.A.) より提供された標準各脂酸の保持時間と比較同定し、各脂酸 peak 面積を planimeter により算出し chromatogram 上の総脂酸に対する百分率をもって示した。

3. Corticosterone の測定

Silver 等の方法⁽³⁴⁾に従い fluorometry で測定した。corticosterone の分泌量は mug/min/100gm body weight で示し副腎 steroid 合成の指標とした。

なお測定に使用した試薬は chloroform は aldosterone 測定用, 他は特級試薬を用いたが dichloromethane および gaschromatography 用 petroleum ether は精製后使用した。

実験成績

1. 下垂体摘出および下垂体摘出后 ACTH 投与時の副腎脂質 (Table 1)

無処置正常ラットの総 cholesterol は副腎 100mg に 3.8mg 含有されその 81.6%, 3.1mg は cholesteryl ester として存在する。下垂体摘出后 48 時間経過せるラットでは cholesteryl ester 濃度および絶対量はいずれも著明に増加する。下垂体摘出ラットに ACTH 投与 4 時間后には cholesteryl ester は減少して正常ラットのレベルに近づく。

Triglyceride 濃度は下垂体摘出により軽度増加傾向が認められる。phospholipid はラット副腎中に多量に含有されており, 下垂体摘出により phospholipid の絶対量の減少傾向をみるが有意差は認められない。

なお下垂体摘出后 48 時間経過せるラットでは corticosterone の分泌は 10 mug/min/100gm body weight と著明に低下しており副腎重量は無処置正常ラットの 4/5 に萎縮する。

Table 1. Effect of hypophysectomy with or without ACTH on the rat adrenal lipids

	Intact		Hypophysectomy		Hypophysectomy+ACTH	
	%	mg/rat	%	mg/rat	%	mg/rat
Cholesteryl ester	3.1±0.23*	0.8±0.04	6.2±0.20 #	1.2±0.08 #	4.7±0.21 †	0.9±0.10 †
Free cholesterol	0.7±0.04	0.2±0.01	1.0±0.17	0.2±0.01	1.0±0.16	0.2±0.01
Triglyceride	2.6±0.30	0.6±0.08	3.6±0.47	0.7±0.12	3.3±0.42	0.6±0.05
Phospholipid	5.9±0.35	1.5±0.15	5.4±0.30	1.0±0.11	6.1±0.34	1.1±0.09
Free fatty acid**	7.3±1.62	1.8±0.41	6.7±2.36	1.3±0.53	10.2±2.27	1.9±0.93
Body weight(g)	169.8±3.69		155.7±4.46		151.8±4.50	
Adrenal weight(mg)	25.0±1.18		19.0±1.51		18.6±1.68	

* The values are expressed in mean results of five groups of each 5~10 rats with standard errors.

** ueq instead of mg.

P<0.01 in comparison to intact.

† P<0.01 in comparison to hypophysectomy.

2. 下垂体摘出および下垂体摘出后 ACTH 投与時の副腎脂酸構成 (Table 2)

無処置正常ラットの cholesteryl ester では palmitic acid (16:0), oleic acid (18:1), arachidonic acid (20:4), docosatetraenoic acid (22:4), docosaheptaenoic acid (22:6) などが主な脂酸であるが特にリノール酸系の脂酸である 20:4, 22:4 などの高級不飽和脂酸に富んでいる。下垂体摘出ラットでは 16:0, 18:1, 18:2 の増加 20:4, 22:6 の減少を認める。下垂体摘出ラットに ACTH を投与した際には 20:4 が更に減少し 22:6 の軽度増加を示す。

Triglyceride の脂酸構成は無処置ラットでは 16:0, 18:1 の飽和および mono 不飽和脂酸が計 50% 以上を占め linoleic acid (18:2) も他の分画と比較すると比率が高い。下垂体摘出により 20:4 の減少を認める。

phospholipid は stearic acid (18:0) の飽和脂肪酸及び 20:4 が計 80% 近くを占めるという特徴をもっているが下垂体摘出および下垂体摘出后 ACTH 投与の影響は認められなかった。

Table 2. Effect of hypophysectomy with or without ACTH on the fatty acid composition of the rat adrenal lipids *

Fatty acid**	Cholesteryl ester			Triglyceride			Phospholipid		
	Intact	H***	H+ACTH	Intact	H	H+ACTH	Intact	H	H+ACTH
16:0	11.5±1.1 ₅	14.1±1.5 ₄ [#]	13.1±1.07	25.6±2.19	25.6±2.56	23.5±2.48	9.6±0.94	8.9±1.08	8.7±1.53
16:1	2.0±0.24	2.6±0.47	2.5±0.47	4.1±0.27	4.2±0.82	3.6±0.87			
18:0	2.3±0.37	3.5±0.54	3.9±0.47	9.3±0.34	9.6±0.48	9.8±0.48	40.2±3.25	42.0±1.94	42.0±3.80
18:1	10.4±0.61	15.6±1.70 [‡]	15.1±0.61	26.8±2.04	29.8±2.98	29.5±2.11	7.0±1.00	7.1±1.37	7.3±0.61
18:2	2.4±0.27	3.8±0.50 [‡]	3.3±0.42	11.1±1.01	9.5±1.17	9.9±1.43	3.3±0.37	3.3±0.39	2.9±0.30
20:3	2.0±0.31	1.9±0.23	1.5±0.49						
20:4	18.9±1.40	14.4±1.87 [§]	10.3±0.85 [‡]	6.6±0.54	3.6±1.00 [‡]	4.6±1.24	37.1±2.68	36.5±1.18	35.6±4.18
22:4	24.8±0.79	23.1±2.25	22.7±2.00				1.2±0.53	1.0±0.31	1.1±0.40
22:5	3.8±0.52	2.7±0.58	4.0±1.06						
22:6	5.3±0.59	5.6±0.86 [‡]	8.7±1.56 [§]						

* Trace amounts of unknown or unidentified fatty acids are not listed.

** Shorthand designation for fatty acids; number before colon=chain length; number after colon=number of double bond.

*** H=hypophysectomy

**** The values are expressed in weight percentages of the total fatty acids, mean results of five groups of each 5~10 rats with standard errors.

P<0.1, ‡ P<0.05, § P<0.01 in comparison to intact.

§ P<0.1, & P<0.01 in comparison to hypophysectomy.

Table 3. Effect of ACTH on the cholesteryl ester levels and its fatty acid composition in the rat adrenal glands*

	Control	Time (min) after injection of ACTH			
		0	30	60	240
Cholesteryl ester**	3.7±0.18***	3.6±0.32	3.4±0.50	3.2±0.08	2.3±0.09 [#]
Fatty acid****					
16:0	9.6±0.84	10.6±0.84	9.8±0.35	10.1±0.52	10.8±0.84
16:1	2.8±0.46	2.5±0.38	2.9±0.33	2.9±0.19	3.0±0.23
18:0	2.1±0.19	1.9±0.10	1.8±0.04	2.1±0.15	1.8±0.20
18:1	10.3±0.92	10.2±0.85	10.8±1.19	10.6±0.64	8.7±0.39
18:2	3.5±0.49	2.9±0.91	3.3±0.24	3.1±0.59	2.3±0.19
20:3	2.5±0.32	2.3±0.04	2.7±0.15	2.3±0.15	1.8±0.19
20:4	19.3±0.52	19.8±2.10	18.8±1.97	15.9±1.76 [#]	11.2±2.01 [#]
22:4	21.9±1.93	24.3±2.96	21.9±0.12	23.8±2.41	24.9±0.61
22:5	2.6±0.74	2.2±0.55	2.1±0.15	2.3±0.43	3.5±0.32
22:6	9.3±0.84	9.9±1.85	10.1±0.48	13.1±0.16 [‡]	14.4±1.47 [‡]

* Trace amounts of fatty acids are not listed.

** mg/100mg wet tissue of adrenal gland.

*** The values are expressed in mean results of three groups of each 5 rats with standard errors.

**** Shorthand designation for fatty acids; number before colon=chain length; number after colon=number of double bonds.

***** weight percentages of total fatty acids, mean values of three groups of each 5 rats with their standard errors.

P<0.01, ‡ P<0.05 in comparison to control.

3. 副腎 cholesterol 量およびその脂酸構成の ACTH による変動 (Table 3)

ACTH 50 μ g/100gm body weight 投与后 cholesteryl ester は漸減し 4 時間后には対照群の約 60% に減少する. cholesteryl ester の脂酸構成では 20:4 が対照群の 19.3% から漸減し 4 時間后には 11.2% と著明に減少する. 一方 22:6 は漸増して 4 時間后には 14.4% となるが他の脂酸の比率には変動がみられない. ACTH 投与后の cholesteryl ester の減少と cholesteryl ester 中の 20:4 の低下とから cholesteryl arachidonate が ACTH 投与により特異的に漸減していくことが明らかである. ここには表示しなかったが free cholesterol, triglyceride phospholipid 含量および triglyceride, phospholipid の脂酸構成には変動が認められない.

4. AGT 投与後の副腎脂質の変動 (Table 4, 5, Fig. 1)

AGT 20 mg/100gm body weight 3 日ないし 5 日間投与により対照群に比較して副腎重量及び cholesteryl ester の著明な増加と corticosterone 分泌の著明な低下を認める (Table 4, Fig. 1). cholesteryl ester の脂酸構成では 16:1, 18:2, 20:3 の増加 22:4, 22:6 の減少を認める (Table 4). ここには表示しなかったが triglyceride, phospholipid, free fatty acid の濃度および triglyceride, phospholipid の脂酸構成に変動は認められない. 血漿 cholesteryl ester の脂酸構成を Table 5 に示すが AGT 3 日ないし 5 日間投与ではこれらの値に影響を及ぼさなかった.

Fig. 1 Effect of aminoglutethimide (AGT) on adrenal cholesterol & corticosterone output

Table 4. Effect of amonoglutethimide on adrenal weight, cholesteryl ester and its fatty acid composition in rat.

	<u>Control</u>	<u>AGT 3days</u>	<u>AGT 5days</u>
Adrenal weight (mg)	19.9±1.31*	25.1±0.62 [#]	27.2±0.97 [#]
Cholesteryl ester (%)	2.3±0.38	5.6±0.34 [#]	7.8±0.33 [#]
Fatty acid**			
16:0	10.5±1.12***	11.5±0.04	12.6±0.55
16:1	2.2±0.11	3.7±0.08 [#]	4.3±0.20 [#]
18:0	3.0±0.55	2.3±0.41	2.8±0.29
18:1	11.4±0.80	15.9±0.53 [‡]	18.7±1.44 [‡]
18:2	3.8±0.21	5.4±0.09 [#]	6.2±0.24 [#]
20:3	1.9±0.09	4.0±0.42 [#]	4.0±0.74 [#]
20:4	16.8±0.95	15.5±0.49	15.3±0.83
22:4	21.8±1.42	17.7±0.48 [‡]	16.5±0.74 [‡]
22:5	1.9±0.22	3.7±0.81	1.1±0.15
22:6	12.5±1.12	6.1±0.37 [#]	6.0±0.85 [#]

* Mean values of 9~15 rats with their standard errors.

** Shorthand designation for fatty acid; number before colon=chain length; number after colon=number of double bonds.

***Weight percentages of the total fatty acids, mean results of three groups of each 3~5 rats with standard errors. Trace amounts of fatty acids are not listed.

[#]P<0.01, [‡]P<0.05 in comparison to control.

Table 5. Effect of aminoglutethimide on the fatty acid composition of plasma cholesteryl ester in rats.

	<u>Control</u>	<u>AGT(3days)</u>	<u>AGT(5days)</u>
16:0*	9.2	9.2	7.9
16:1	3.0	3.3	1.9
18:0	1.3	1.3	0.9
18:1	8.8	10.5	8.8
18:2	21.9	22.1	22.9
20:4	46.3	44.6	48.9
22:4	0.5	—	—
22:5	1.5	2.0	2.3

* Shorthand designation for fatty acid, number before colon=chain length; number after colon=number of double bonds.

考 按

正常ラット副腎の cholesteryl ester は 16:0, 18:1, 20:4, 22:4, 22:6 などが主たる脂酸であるが特にリノール酸系の脂酸を 48.1% 含み, 就中 20:4, 22:4 といった高級不飽和脂酸を多量に含有している (Table 1). Chang and Sweeley⁽⁵⁾ は 22:4 の構造を犬の副腎で明らかにし, 副腎に多量に且特異的に認められる脂酸ということから adrenic acid と名付けている.⁽⁵⁾

副腎 cholesteryl ester の脂酸構成は血液や肝臓などの cholesteryl ester とは明らかな差異が認められる. 血液中の cholesteryl ester は前述の如く 18:2, 20:4 が多く含まれており (Table 5), 肝臓では 18:1 が主たる脂酸で 18:2 もかなり含まれているが 20:4 は少ない. 22:4, 22:6 の脂酸は血液, 肝臓 c-cholesterylester 中にはほとんど認められない.⁽¹⁷⁾

このように副腎 cholesteryl ester に多量に含まれている高級不飽和脂酸は ACTH 投与で cholesteryl-ester が減少する際にも又下垂体摘出或いは AGT 投与により cholesteryl ester が蓄積する時にも特異な変動を示した.

ACTH 投与后副腎内 cholesteryl ester は減少するが cholesteryl ester 中 20:4 の比率が特異的に漸減する. 20:4 の比率の減少は正常ラットに ACTH を投与した際にも (Table 3) 又すでに正常ラットとは異った cholesteryl ester の脂酸構成を示す下垂体摘出ラットに ACTH を投与した時 (Table 2) にも同様に認められた.

Dailey らは ACTH 投与后ラット副腎内 cholesteryl ester 中 20:4 と 22:4 の変動を言及し⁽⁷⁾ 又 Grant は ACTH 投与后脂酸構成の変動は顕著でないが 18:2 が減少して 20:4 が増加することを報告している.⁽¹⁹⁾ 彼等の報告には詳細なデータが発表されていないので著者の結果と相異している理由は不明である. 一方 Moor らは家兎を用いて同様の実験を行い ACTH 投与后 30 分以内に cholesteryl ester 中 18:2, 18:3, 20:3 の比率の減少, 22:4, 22:6 の比率の増加を認めその後徐々に正常値に戻ることを報告している.⁽²⁰⁾ ラットでは家兎と比較すると cholesteryl ester 中少数の脂酸が ACTH により緩徐な変動を示すといえる. 又無処置ラットと, 家兎の副腎 cholesteryl ester の脂酸構成には著明な差異が存在するか ACTH がこれら cholesteryl ester の脂酸構成に対して種属により異った作用を及ぼすことは極めて興味のある所見である.

ACTH 投与后ラット副腎内 cholesteryl ester が減少する機序として副腎内 cholesterol esterase の活性が ACTH によって高まることが考えられている.⁽⁹⁾ 実験 2, 3 に見られた cholesteryl arachidonate が ACTH により特異的に漸減する機序は不明であるが cholesterol esterase のうち cholesteryl arachidonate に substrate specificity を持つものの活性が ACTH により高まるか又は esterase 反応の場へ cholesteryl arachidonate が到達され易いことなどが想定される. Dailey らは犬副腎スライスを用いての in vitro の実験で cholesteryl arachidonate が cholesteryl palmitate, -oleate, -linoleate よりすみやかに加水分解を受けることを証明している.⁽⁸⁾

ACTH 投与により減少する cholesteryl arachidonate は ACTH による副腎 steroid hormone の産生増加と何らかの関連を考えさせる. ACTH 投与后 cholesteryl arachidonate は 4 時間にわたり徐々に減少するのに対して steroid hormone 分泌は数分にして増加し, peak に達した後やがて減少しかなり早期に元のレベルへ戻る⁽²⁴⁾ ことを考えると cholesteryl arachidonate が steroid hormone の直接の precursor としては考えにくい. Sinclair らは, 不可欠脂酸 (リノール酸系脂酸) が steroid hormone 合成に役立つことを示唆し⁽³⁵⁾ 又 Hayashida らは不可欠脂酸欠乏ラットにおいて ACTH 刺激後の steroid hormone 合成の低下を証明している.⁽²¹⁾ このようにむしろ不可欠脂酸の一員である arachidonic acid が steroid hormone 合成に重要な役割を果たしている可能性も考慮する必要がある. Bergström⁽²³⁾ 及び Van Dorp⁽³⁹⁾ らにより羊の前立腺に於て arachidonic acid から prostaglandin E₂ への転換が証明されており, 一方 Flack⁽¹⁵⁾ らは in vivo 及び in vitro の実験から prostaglandin E₂ が副腎 steroid hormone 生合成を亢進させることを報告し

ている。ACTH 投与後に減少する cholesteryl ester 中 arachidonic acid が prostaglandin E_2 となり、steroid hormone 生合成の亢進をもたらすことも想定され更に今後の検討が必要である。

下垂体摘出及び AGT 投与により副腎 steroid hormone 生合成が抑制され副腎内 cholesteryl ester が著明に蓄積してくる際に cholesteryl arachidonate が如何なる変動を示すかが注目されたが下垂体摘出時には 20:4 の比率は減少し AGT 投与時には不変であった。下垂体摘出時の cholesteryl ester の蓄積は ACTH 欠乏に伴ない副腎内の代謝の低下の一部として cholesterol の利用が低下したことによると考えられるし、AGT 投与時には cholesterol が pregnenolone 生成の段階で抑えられ steroid hormone 分泌の低下により生じた内因性の ACTH の増加が血中から cholesterol を取り込み副腎に蓄積するといわれる。⁽¹²⁾ 従って両処置による副腎内 cholesteryl ester 蓄積の機序は単に cholesterol から steroid hormone への合成低下のみによるというよりもっと複雑な因子が関与している。

両群に蓄積してくる cholesteryl ester の脂酸構成では 16:0, 16:1, 18:1 の飽和及びモノ不飽和脂酸の比率の増加が認められる。これらの脂酸の増加は血中や肝臓内に cholesteryl ester が蓄積する際に伴ってしばしばみられるがその説明として飽和及びモノ不飽和脂酸の cholesteryl ester の加水分解にあずかる酵素が限定して存在すると述べられている⁽¹⁷⁾ が副腎にもあてはまるか否かは不明である。cholesteryl ester 中のリノール酸系の脂酸の合計は下垂体摘出群で 43.2%, AGT 投与群で 42.0% と正常ラット群 48.1% と比較するといずれも低下している。しかしながらリノール酸系の個々の脂酸には両群に更に明らかな差が存在し下垂体摘出時には 18:2 の比率の増加 20:4 の比率の減少、AGT 投与群では 18:2, 20:3 の比率の増加 22:4 の比率の減少が認められる。Mead 等の報告からリノール酸系脂酸の合成は 18:2 → 18:3 → 20:3 → 20:4 → 22:4 の経路が考えられる⁽²⁷⁾ が、下垂体摘出により、20:3 → 20:4 の desaturation の障害と AGT 投与により 20:4 → 22:4 の chain elongation の障害が想定される。この差異を ACTH の欠乏又は過剰によると考えるのは実験 2, 3, から考えても説明し難く下垂体及び AGT のリノール酸系脂酸の interconversion における直接の役割りも考慮する必要がある。

副腎内 cholesteryl ester の蓄積及び脂酸構成の変動な食餌の影響によっても認められる。Ostwald らは⁽²⁸⁾ ラットに cholesterol を与えた際副腎内 cholesteryl ester の蓄積とその脂酸構成上 20:3 の増加 20:4 の減少を認めている。Gidetz,⁽¹⁸⁾ Hayashida⁽²¹⁾ らは不可欠脂酸欠乏ラットでは増加する副腎 cholesteryl ester 中飽和及びモノ不飽和脂酸、20:3 (W-9) の増加とリノール酸系脂酸の減少を証明した。cholesterol 摂取又は不可欠脂酸欠乏時の副腎内 cholesteryl ester の pattern は下垂体摘出あるいは AGT 投与時の pattern と異なる。

副腎 cholesteryl ester は血中からの取り込み、cholesteryl ester の水解及び合成血中への放出などの動的平衡として存在しているが、これらの機序に影響を及ぼすと考えられる hormonal, pharmacological あるいは diet 等の因子は脂酸の特有な変動をともなった cholesteryl ester の減少或いは蓄積をもたらす。これは cholesteryl ester が代謝の遅い蓄積型として存在するというよりもむしろ活発な代謝回転をしており、異った脂酸の cholesteryl ester の代謝速度が夫々異っており、ACTH 投与時の cholesteryl arachidonate の特異的な減少としてみられたように個々の cholesteryl ester の重要な生理的意義を示唆するものと考えられ今後の検討が待たれる。

副腎内 triglyceride は ACTH 投与により脂肪組織⁽¹⁴⁾ と同様に lipolysis の亢進をおこす可能性は十分に想定されるが、本実験では ACTH 50 mu/100gm body weight 投与後には triglyceride 変動は認められなかった。Rudman⁽³³⁾ らは非生理的大量の ACTH (10U) 投与によりはじめて副腎 triglyceride の減少を認めている。triglyceride は副腎に於ても脂肪組織におけると同様なエネルギー源であるのか更に他の機能を果たしているかは不明である。

副腎 phospholipid は高濃度に含まれており脂酸構成上 18:0 の飽和脂酸と 20:4 を多量に含有している。

ACTH 投与, 下垂体摘出或いは, AGT 投与により phospholipid の変動はほとんど認められなかった。Eberhagen⁽¹³⁾ らは ACTH 投与によりラット副腎 phospholipid 含量には変化を認めないがその脂酸構成上 20:4 が対照群の 5.5% から 7 倍に増加することを報告しているが, 対照群の比率が低すぎる点に問題がある。phospholipid は膜の構成成分として又酵素の働きに重要な役割を有している。⁽²⁰⁾ ACTH 投与, 下垂体摘出又は AGT 投与時には当然膜の変化, 酵素の活性等に変動が来たと思えるが phospholipid はほとんど変動を示さなかった点非常に興味のある所見である。この事実は phospholipid の代謝が極めて遅いのかあるいはかなりの速度で代謝されてもすぐに補われて動的平衡を保っていることも考えられる。

副腎内 free fatty acid は ACTH 投与, 下垂体摘出 AGT 投与等により有意な変動を示さなかった。ACTH により cholesteryl ester の加水分解が おこり脂酸が遊離される結果 副腎内に free fatty acid が増加することが想像されるがこの実験では認め得なかった。これは free fatty acid がただちに代謝される結果副腎内に蓄積されない可能性も考えられる。Macho らは⁽²⁶⁾ ACTH 2 U/100gm body weight 投与によりラット副腎内 free fatty acid の減少を報告しているが Robertson ら⁽³²⁾ の逆の報告もある。

結 論

1. ラット副腎内 cholesterol, triglyceride, phospholipid, free fatty acid 量および cholesteryl ester, triglyceride, phospholipid の脂酸構成を gas liquid chromatography を用いて測定し, 下垂体摘出, ACTH 投与および AGT 投与の影響を検討した。
2. 副腎内の cholesterol は約 80% が ester 型として存在し特に高級不飽和脂酸に富むことを確かめた。
3. ACTH 投与時には cholesteryl arachidonate が特異的に漸減することを証明し cholesteryl arachidonate と steroid hormone 合成との関連を考察した。
4. 下垂体摘出又は AGT 投与により steroid の合成が抑制されている際に増加してくる cholesteryl ester の脂酸構成では飽和および mono 不飽和脂酸の増加を認めた。リノール酸系の脂酸の合計は両群とも減少するが下垂体摘出時 20:3 → 20:4 の desaturation の障害を AGT 投与時 20:4 → 22:4 の chain elongation の障害を示唆する所見が得られた。
5. Triglyceride は ACTH 投与により変動は認められなかった。
6. Phospholipid は下垂体摘出, ACTH 投与並びに AGT 投与のいずれによっても影響を受けなかった。
7. Free fatty acid 量も上述の実験条件下では変動がみられなかった。

終りにあたり懇切な御指導と御校閲を賜った中尾喜久教授に深謝いたします。また、終始直接の御指導をいただきました井林博博士、御援助下さいました大沢伸昭博士、中村真巳博士に心から感謝いたします。

文 献

- 1) Adams, E. and Baxter, M., Arch. Pathol. 48: 13, 1949.
- 2) Bertlett, G.R., J. Biol. Chem. 234: 466, 1959.
- 3) Bergström, S., Danielsson, H. Klenberg, D. and Samuelson, B., J. Biol. Chem. 239: 4006, 1964.
- Blank, M.L., Schmidt, J.A. and Privett, O.S., J. Amer. Oil Chem. Soc. 41: 371, 1964.
5. Chang, I. and Sweeley, C.C., Biochemistry, 2: 592, 1963.
6. Cook, R.P.: Cholesterol, 165, Ed. by Cook, R.P. Academic Press Inc., New York, 1958.
7. Dailey R.E., Swell, L.S., Field, H. and Treadwell C.R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 105: 4, 1960.
8. Dailey, R.E., Swell, L.S. and Treadwell, C.R., Arch. Biochem. Biophys., 100: 360, 1963.
9. Davis, W.W. and Garren L. D., Biochem. Biophys. Res. Commun. 24: 805, 1966.

- 10) Devel, H.J., Interscience Publ., 1951-1957, New York.
- 11) Dexter, R.N., Fishman, L.M., Ney, R.L. and Liddle, G.W., J. Clin. Endocr. 27: 473, 1967.
- 12) Dexter, R.N., Fishman, L.M., Ney, R.L. and Liddle, G.W., Endocrinology, 181: 1185, 1967.
- 13) Eberhagen, D., Hoppe-Syler's Zeitschrift Physiol. Chemic, 347: 64, 1966.
- 14) Engel, F.L., Adipose tissue as an organ, 126. Ed. by Kinsell, L.W., Charles C. Thomas, Springfield, 1962.
- 15) Flack, J.D., Jessup, R. and Ramwell, P.W. Science, 163: 691, 1968.
- 16) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S., J. Biol. Chem. 226: 497, 1957.
- 17) Goodman, D.S., Physiol. Rev., 45: 4, 1965.
- 18) Gidez, L.I., Biochem. Biophys. Res. Commun. 14: 5, 1964.
- 19) Grant, J. K., Brit. Med. Bull, 18: 99, 1962.
- 20) Green, D.E., and Fleisher, S., Biochim. Biophys. Acta, 70: 554, 1963.
- 21) Hayashida, T. and Portman, O.W., Amer. J. Physiol. 197: 4, 1959.
- 22) Ichii, S., Kobayashi, S. and Matsuba, M., Steroid, 5: 5, 1965.
- 23) Itaya, K., and Ui, M., J. Lipid Res. 6: 16, 1965.
- 24) Liddle, G.W., Island, D. and Meador, C.K., Recent Prog. Horm. Res. 18: 125, 1962.
- 25) Lipscomb, H. and Nelson, D.H., Fed. Proc. 18: 373, 1959.
- 26) Macho, L. and Palkovic, M., Experientia, 15: 8, 1965.
- 27) Mead, J.F., Progress Chem. of Fats and Other Lipids, Vol. IX. 161 Ed. by Holman, R.T., Pergamon Press. Inc., London, 1968.
- 28) Moor, J. H. and Noble, R.C., Canad. J. Biochem. 45: 1335, 1967.
- 29) Ostwald, R., Shannon, A., Miljanich, P., and Lyman, R.L., J. Nutr. 82: 443, 1964.
- 30) Raggatt, R.R., Engel L.L., and Symington, T. Lipids, 7: 474, 1972.
- 31) Riley, C., Biochem. J. 87: 500, 1963.
- 32) Robertson, G.L., and Reddy, W.J., Fed. Proc. 26: 936, 1967.
- 33) Rudman, D., and Reddy, W.J., Endocrinology 78: 1087, 1966.
- 34) Silver, R.H. and Porter, C.C., Chem. Science, 4: 278, 1958.
- 35) Sinclair, H.M., Academic Press., London, 1958.
- 36) Stoffel, W., Chu, F., and Ahrens, E.H., Analyt. Chem. 31: 307, 1959.
- 37) Takayasu, K., Okuda, K. and Yoshikawa, I., Lipids, 5: 743, 1970.
- 38) Van Handel, E. and Zilversmidt, O.B., J. Lab. Clin. Med. 50: 152, 1957.
- 39) Van Dorp, D.A., Beerthnis, R.K., Nugteren, D.H. and Vonkeman, H., Biochim. Biophys. Acta, 90: 204, 1964.
- 40) Walker, B.L., and Carney, J.A., Lipids. 6: 797, 1971.
- 41) Zak, B., Moss, N., Boyle, A.J., and Zlatkis, A., Analyt. Chem., 26: 776, 1954.