グルコルチコイド投与に伴う 高トリグリセリド血症の検討

一家兎のトリグリセリド分泌率と
Post-heparin lipolytic activity に及ぼす
Cortisone Acetate の影響—

金沢大学医学部第2内科

(指導・竹田亮祐教授)

三 林 裕

Glucocorticoid-Induced Hypertriglyceridemia: Effects of Cortisone Acetate on Triglyceride Secretion Rates and Post-Heparin Lipolytic Activity in Rabbits

Yutaka MIBAYASHI

The Second Department of Internal Medicine

Kanazawa University School of Medicine

(Director: Prof. Ryoyu Takeda)

In order to elucidate the mechanisms of glucocorticoid-induced hypertriglyceridemia, 3mg or 10mg/kg of cortisone acetate were administered daily intramuscularly for 8 days to male albino rabbits which were fed 150g/day of a complete commercial diet. Plasma triglyceride (TG), cholesterol (Chol), free fatty acid (FFA), glucose, IRI, very low density lipoprotein (VLDL)-TG, and post-heparin lipolytic activity (PHLA) were determined. PHLA was measured 10 minutes after a heparin (Novo Co., Denmark; 10 units/kg) injection, and then 30, 60, 120 and 180 minutes after pulse injections of heparin (100 units/kg) at 30 minute intervals up to 120 minutes.

In another experiment, following 1 week of daily intramuscular injections of 3mg/kg of cortisone acetate, triglyceride secretion rates (TGSR) were estimated, using intravenous injections of Triton WR-1339 (750mg/kg).

Also, plasma glucose, IRI, and FFA responses were measured after an intravenous glucose administration test (1.0g/kg) which was performed before and after cortisone acetate treatment.

The results were the following:

(1) Significant increase ($p<0.001$) in plasma TG and VLDL-TG without any rise of plasma Chol.

(2) Increased plasma IRI, glucose and FFA levels at fasting and after intravenous glucose load.

(3) No change in PHLA.

(4) Highly significant increments ($p < 0.001$) in TGSR.

Plasma TG and VLDL-TG showed a significant correlation with fasting plasma FFA and IRI levels, and TGSR showed a significant correlation with fasting plasma IRI and Σ glucose (summation of each time glucose level in intravenous glucose load).

These findings suggest that glucocorticoid-induced hypertriglyceridemia is primarily a consequence of increased hepatic TG production rates, through elevated plasma FFA, IRI and glucose levels.

は じ め に

従来より、ヒトと動物にグルココルチコイド (以下、GCと略) を投与すると高脂血症が惹起される場合のあることが知られている⁹⁾²⁰⁾。最近、Reaven, E.P. らはGC処置後のラット肝においてゴルジ装置内の very low density lipoprotein (VLDL) 顆粒の数と大きさの増加を電顕的に観察し、同時に肝のトリグリセリド (以下、TGと略) 分泌率も増加していることからGC投与後の高TG血症は肝でのVLDL産生増加による可能性を示唆した²⁰⁾。一方、Bagdade, J.D. らはGC処置ラットの脂肪組織リポ蛋白リパーゼ活性の低下を観察し、これがGC投与後の高TG血症の主因であろうと考えた¹⁾。いずれにせよ、GC投与後の高TG血症は主に肝から血中へのTG放出と末梢組織でのTG処理との間の相対的不均衡により生ずると考えられるが、その検討はまだ不十分で一定の見解に達していない。

Rudman, D. と DiGirolamo, M. はGC投与により確実に高脂血症を惹起せしめうる動物は家兎とニワトリのみである²⁰⁾と述べており、家兎ではGC投与後、著明な高TG血症を生ずることが報告されている⁹⁾が、その後この動物を使用してGCと糖・脂質代謝との関連性を詳細に検討した報告は少ない。そこで、今回、著者は対象動物として家兎を選び、GC処置後のTG分泌率とPost-heparin lipolytic activity (PHLA) を中心に検討し、GC投与後の高TG血症の発現機序を究明しようと考えた。

材 料 と 方 法

実験〔I〕：GC投与後の血漿脂質レベルとPHLAに関する検討方法。

体重2.0kg前後の雄家兎を市販固型食 (オリエンタル固型飼料RC₄) 120 g/日で飼育し、4週後まで順調な体重増加を示した22羽を使用した。これらをCortisone acetate (Upjohn 社製) (以下、E-Ac と略) 3 mg/kg/日・筋注処置群 (n=7; 以下、E-Ac 3mg群と記す)、同10mg/kg/日・筋注処置群 (n=7; 以下、E-Ac 10mg群と記す)、および対照として生食処置群 (n=8; 以下、生食群と記す) の3群に分け、各群について以下の検討を行った。食餌摂取量は毎日午後6時に点検し、実験期間中、全例が市販固型食150 g/日の全量と水を自由に摂取した。

〔A〕GC投与後の血漿脂質レベルの検討方法。

上記処置前、4日後および8日後の血漿について血糖、IRI、遊離脂肪酸 (以下、FFAと略)、TG、総コレステロール (以下、Chol と略) の測定とNobleの方法に準じてAgarose-Gelによるリポ蛋白電気泳動を行ない、8日目の血漿についてBeckman L5-50超遠心機、Type 40.3-rotorを用い、Havel, R.J. らの方法¹⁰⁾に準じてVLDLを超遠心分離後、そのTG, Chol量を測定した。

〔B〕PHLAに関する検討方法.

前記処置後8日目に12~14時間絶食後, Heparin Na (Novo 社製) 10単位/kgを耳静脈より注射後10分のPHLA (以下, 標準PHLAと記す) と, その後さらにHeparin Na 100単位/kgを30分間隔で120分まで静注し, 注射開始後30, 60, 120, 180分のPHLAを測定した (以下, 大量PHLAと記す). PHLAの測定はBobergとCarlson³⁾および斎藤らの方法²⁰⁾に準じた. すなわち, 基質にはIntralipid (精製大豆油50g, 精製卵黄レシチン6g, 注射用グリセリン12.5g/500ml; ミドリ十字) 10mgにウシアルブミン (分画V, Fatty Acid Free; Sigma 社) 20mgを含むアンモニア緩衝液 (pH8.7) に正常人血漿10mlを添加して混和したのち, 37℃1時間孵置して活性化し, この活性化基質1mlに試料血漿0.2mlを加えて37℃で15分および45分間孵置したのち遊離したFFAをItaya-Ui変法で測定し酵素活性を計算して $\mu\text{EqFFA}/\text{ml}/\text{min}$ で表わした.

実験〔II〕: TG分泌率に関する検討方法.

体重2.2kg前後の雄家兔を前記市販固型食120g/日で飼育し, 2週後まで順調な体重増加を示した13羽を使用し, 実験開始後は全例が市販固型食200g/日を摂取した. これらをE-Ac処置群 (n=6) と生食処置群 (n=7) に分け, 前者には処置に先立ち第1回目のIntravenous glucose tolerance test (1g/kg; 以下, i.v.GTTと記す) を施行し, 前, 後15, 30, 60, 120分の血漿について血糖, FFA, IRIを測定した.

Fig. 1 Method of determining triglyceride secretion rate (TGSR:mg/min) in rabbit, using intravenous Triton (750mg/kg).

TG₀=basal plasma TG concentration (mg/100ml); TG₁=first plasma TG concentration after Triton injection; T₁=time of first sampling in minutes after Triton injection; TG₂=second plasma TG concentration after Triton injection; T₂=time of second sampling in minutes after Triton injections; PV_E=estimated plasma volume based upon the linear relationship between body weight and plasma volume, expressed by the formula: PV_E=52X Weight(kg)-20. TG, triglyceride. Triton, Triton WR-1339.

Table 1. Body Weight (Weight), Fasting Plasma Glucose (Fasting Glucose), Triglyceride (TG), Total-Cholesterol (Chol), Free Fatty Acid (FFA), and Immunoreactive Insulin (IRI) before and 4 and 8 Days after Saline or Cortisone Acetate Treatment in Rabbits.

No	Weight		Fasting Glucose		TG		Chol		FFA		IRI	
	4days bef.	8days after	4days bef.	8days after	4days bef.	8days after	4days bef.	8days after	4days bef.	8days after	4days bef.	8days after
	kg	kg	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	μg/L	μg/L	μU/ml	μU/ml
Control												
1	2.60	2.66	2.74	96	95	137	48	67	175	14	654	608
2	2.50	2.55	2.55	100	95	107	37	65	19	13	582	415
3	2.54	2.57	2.55	96	85	113	12	12	51	13	395	481
4	2.14	2.20	2.26	106	113	117	76	111	124	14	335	561
5	2.28	2.32	2.34	98	98	109	66	87	85	37	661	801
6	2.48	2.66	2.65	106	134	138	88	110	82	35	435	462
7	2.22	2.32	2.28	128	99	107	73	120	127	18	397	596
8	2.46	2.49	2.58	105	130	101	45	45	87	35	684	636
Mean	2.42	2.47	2.49	104.4	106.1	116.1	56.0	86.9	93.8	29.3	545.1	582.8
± SEM	±0.06	±0.06	±0.06	±3.7	±6.3	±4.9	±8.9	±9.3	±17.1	±7.0	±42.9	±45.9
Cortisone Acetate (3mg/kg)												
9	2.48	2.52	2.53	97	124	116	56	185	493	45	780	382
10	2.46	2.50	2.55	117	91	125	52	53	123	33	609	640
11	2.44	2.48	2.42	107	79	89	32	175	190	55	386	943
12	2.77	2.83	2.80	116	183	159	49	110	135	20	461	419
13	2.28	2.30	2.26	103	101	122	74	215	245	8	592	882
14	2.58	2.68	2.56	85	86	141	95	225	572	38	430	768
15	2.32	2.48	2.36	103	102	107	42	228	542	38	534	523
Mean	2.47	2.51	2.47	104.0	109.4	122.7	41.3	33.9	34.7	34.7	541.7	657.1
± SEM	±0.06	±0.07	±0.07	±4.2	±13.4	±8.6	±10.2	±6.6	±4.5	±4.5	±50.5	±83.9
Cortisone Acetate (10 mg/kg)												
16	2.56	2.61	2.60	113	145	162	103	96	263	87	581	566
17	2.44	2.61	2.54	107	116	219	78	580	840	22	473	2169
18	2.46	2.48	2.50	82	130	143	98	535	650	22	412	3189
19	2.56	2.68	2.65	120	169	177	40	98	110	36	624	1802
20	2.52	2.64	2.55	114	130	148	72	350	835	54	368	1084
21	2.60	2.64	2.68	115	138	185	23	171	254	25	703	792
22	2.04	2.23	2.08	114	176	197	109	250	518	28	538	759
Mean	2.45	2.54	2.51	109.3	143.4	175.9	74.7	297.1	467.1	39.3	531.9	970.4
± SEM	±0.07	±0.06	±0.08	±4.8	±8.2	±10.2	±12.4	±15.2	±112.9	±8.2	±43.1	±209.4

*p<0.05 (v.s. control)

##p<0.05 (v.s. bef.)

**p<0.01

##p<0.01

***p<0.001

###p<0.001

その後7日間、E-Ac 3 mg/kg/日を筋注した後12から14時間絶食させ、Triton WR-1339を使用しTG分泌率(TG Secretion Rate: 以下、TGSRと略す)を算出した。すなわち、図-1のようにTriton WR-1339静注後、血漿TGは直線的に増加することより、前採血後耳静脈よりTriton WR-1339; 750mg/kgを注射し、50と100分後に採血し、その血漿TGレベルを測定し、図-1の式よりTGSRを算出した。なお、予備実験において、正常およびE-Ac処置家兎ではTriton量は250~500mg/kgでTGSRに対し最大有効量に達していたが、今回はTriton量として750mg/kgを採用した。また、循環血漿量をEvans Blue 1cm³を静注し15分後に採血した血漿の吸光度より求めたところ、循環血漿量(Y: cm³)は体重(X: kg)と正の相関(p<0.01)を示したため、得られた式: $Y = 52X - 20$ に従い循環血漿量は体重より算出した。TGSR算出実験に引き続き第2回目のi.v. GTTを前回同様に施行した。対照群には生食を7日間筋注し、12時間絶食後、E-Ac処置群と同方法でTriton静注およびi.v. GTTを施行した。

以上の〔I〕,〔II〕の実験中、全ての操作を無麻酔下で施行し、全ての採血は耳静脈より行ない、血液採取にはEDTA(和光純薬K.K.特級)を使用した。また、血糖はGlucose Oxidase法、TGはAcetyl Acetone法、総Cholは酵素法、IRIは2抗体法で測定した。

成績

実験〔I-A〕:

(1) 体重、空腹時血糖、血漿TG、Chol、FFAおよびIRIの経過(表-1):

表-1に示すように、各群とも4日目まで体重は順調に増加したが、E-Ac処置群の2群とも絶食12時間後の8日目の体重は4日目のそれよりもわずかながら減少し、一方、生食群はわずかながら増加した。

空腹時血糖レベルはE-Ac 10mg群のみが4日目、8日目と著明に上昇していった。

血漿TGレベルはE-Ac処置の2群とも著増し、E-Ac 3mg群よりE-Ac 10mg群でより顕著であった。なお、生食群でも8日目の血漿TGレベルは前値より増加していたが、これは食餌摂取量を実験開始後には120g/日から150g/日へと増加させたためと思われた。

血漿Cholレベルは各群とも減少を示したが、いずれも前値に比べて有意の変化とは言えなかった。

血漿FFAレベルは生食群では不変であったがE-Ac処置群では明らかな上昇を示し、特にE-Ac 10mg群では著明であった。

血漿IRIレベルは生食群でも増加したが、これは食餌摂取量の増加によるものと思われた。一方、E-Ac処置の2群とも4日目には対照群のIRIを有意に上回り、8日目にもそのレベルを維持していた。

(2) E-Ac投与前後の血漿リポ蛋白電気泳動像(図-2):

E-Acを投与した全例のリポ蛋白電気泳動像を示した。図中の左端の番号は表-1および表-2のCase No.に一致する。No.10と19以外はE-Ac 3mg群(図-2(a))および10mg群(図-2(b))ともPre-βの著増を特徴とし、一部の例ではわずかにChylomicronの出現を認めた。

(3) VLDL-TGおよびVLDL-Chol量(表-2):

VLDL-TG量はE-Ac処置の2群で著増しており、一方、VLDL-Chol量も増加を示しているが、TGに比べてその増加量は少なく、結果としてVLDL-Chol/VLDL-TG比はE-Ac処置により低値となった。また、VLDL-TGと血漿TGレベルおよびVLDL-Cholと血漿Cholレベルの間にはそれぞれ極めて高い正の相関が認められた(図-3)。

(4) 血漿TGレベルおよびVLDL-TG量は血漿FFAおよびIRIレベルとそれぞれ正の有意の相関を示した(図-4)。また、空腹時血糖と血漿FFAおよびIRIレベルの間にも正の有意の相関を認めた(図-5)。

実験〔I-B〕:

(1) 標準PHLA: 図-6に示すように生食群 0.418 ± 0.056 , E-Ac 3mg群 0.419 ± 0.077 , E-Ac 10mg群 $0.465 \pm 0.075 \mu\text{Eq FFA}/\text{ml}/\text{min}$ で各群間に有意差を認めなかった。

Fig. 2 Plasma lipoprotein electrophoresis before and 4 and 8 days after cortisone acetate treatment in rabbits.

(a): cortisone acetate, 3mg/kg/day. (b): cortisone acetate, 10mg/kg/day. Chyl, Chylomicron. β, β lipoprotein. pre-β, pre-β lipoprotein. α, α lipoprotein.

Table 2. Plasma Triglyceride (TG) and Cholesterol (Chol) and Very Low Density Lipoprotein (VLDL)-TG and Chol Levels 8 Days after Saline or Cortisone Acetate Treatment in Rabbits.

No	Plasma		VLDL	
	TG	Chol	TG	Chol
		mg/dl	mg/dl	
<u>Control</u>				
1	175	14	116	3.5
2	19	13	17	0.0
3	51	13	36	0.8
4	124	14	32	1.4
5	85	32	64	4.0
6	82	38	15	5.4
7	127	18	17	0.3
8	87	33	13	0.7
Mean	93.8	21.9	38.8	2.0
± SEM	± 17.1	± 3.7	± 12.6	± 0.7
<u>Cortisone Acetate (3 mg/kg)</u>				
9	493	44	444	19.3
10	123	33	47	0.6
11	190	55	165	13.3
12	135	20	103	4.7
13	245	32	159	7.3
14	572	29	504	11.9
15	542	30	449	11.7
Mean	328.6 **	34.7 *	267.3 **	9.8 **
± SEM	± 75.2	± 4.3	± 72.0	± 2.3
<u>Cortisone Acetate (10 mg/kg)</u>				
16	263	29	248	7.4
17	840	71	768	33.0
18	650	29	472	8.9
19	110	18	102	1.6
20	835	54	594	18.0
21	254	27	180	5.9
22	318	23	279	5.3
Mean	467.1 **	35.9	377.6 **	11.4
± SEM	± 113.9	± 7.3	± 91.2	± 4.1

**p<0.01 (v.s. control)

*p<0.05 (v.s. control)

Fig. 3 Correlation of plasma triglyceride (TG) with very low density lipoprotein (VLDL)-TG (left column), and correlation of plasma cholesterol (Chol) with VLDL-Chol (right column) in rabbits treated by saline (○) and cortisone acetate (▲:3mg/kg and ●:10mg/kg) for 8 days.

Fig. 4 Correlation of plasma triglyceride (TG) and very low density lipoprotein (VLDL)-TG with plasma free fatty acid (FFA) (left column), and correlation of plasma TG and VLDL-TG with fasting plasma IRI (right column) in rabbits treated by saline and cortisone acetate. Symbols, see Fig. 3.

(2) 大量PHLA: 図-7のように30分間隔で120分にわたり計500単位/kgのHeparin Naを負荷するとE-Ac処置群でPHLAは若干低値を示しはするが、各群間には各時間ともPHLAに有意差は認められなかった。

実験〔II〕: TGSRに関する検討成績.

(1) 全例の血漿リポ蛋白電気泳動像を検討したところ、E-Ac群ではPre- β の著増と一部にはChylomicronの出現を認めた。

Fig. 5 Correlation of fasting plasma free fatty acid (FFA) and IRI with fasting plasma glucose (left column), and correlation of plasma triglyceride (TG) and cholesterol (Chol) with fasting plasma glucose (right column) in rabbits treated by saline and cortisone acetate. Symbols, see Fig. 3.

Fig. 6 Post-heparin lipolytic activity (PHLA) 10 minutes after heparin (10 units/kg) injection in rabbits treated with saline and cortisone acetate.

Fig. 7 Post-heparin lipolytic activity (PHLA) at 30, 60, 120 and 180 minutes after heparin (100units/kg) injection at 30 minutes intervals upto 120 minutes in rabbits treated with saline and cortisone acetate. Symbols, see Fig. 3.

Table 3. Values of Body Weight, Fasting Plasma Glucose, Plasma Basal and Σ Insulin, Plasma Free Fatty Acid, Plasma Triglyceride (TG) and TGSr in Rabbits, either of Cortisone Acetate or Saline Treatment.

Rabbits	Weight	Glucose	Basal Insulin	Σ Insulin # ₁	Free Fatty Acid	Pre-Triton TG ₀	50min post-Triton TG ₁	100min post-Triton TG ₂	TG production # ₂
Cortison Acetate	Kg	mg/dl	μU/ml	μU/ml	μEq/L	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/min
1	2.86	136	12.1	----	505	277	380	495	2.27
2	2.76	122	10.0	84.0	460	520	602	721	2.27
3	2.56	98	13.2	77.5	420	214	311	453	2.45
4	2.18	81	11.3	49.5	465	466	669	858	3.71
5	2.24	81	17.5	108.6	600	721	905	967	2.95
6	2.22	122	12.4	67.7	460	517	643	805	2.57
Mean	2.47	106.7	12.8*	77.5	485.0*	452.5**	585.0**	716.5**	2.70**
± SEM	±0.12	±9.5	± 1.0	± 9.7	± 25.5	± 75.0	± 87.6	± 83.5	± 0.23
Saline									
7	2.46	79	2.5	----	395	45	117	195	1.59
8	2.28	82	1.4	39.7	405	83	138	199	1.12
9	2.32	79	7.8	43.8	340	56	115	207	1.36
10	2.54	77	----	----	505	49	67	104	0.52
11	2.42	----	----	----	310	20	95	262	2.05
12	2.36	107	7.7	----	400	38	117	193	1.57
13	2.06	113	5.1	----	325	67	177	227	1.72
Mean	2.35	89.5	4.9	----	382.5	51.1	118.0	198.1	1.42
± SEM	±0.06	± 6.6	± 1.3	----	± 25.0	± 7.7	± 12.9	± 18.2	± 0.19

*p<0.01, **p<0.001 (v.s. Saline control group)

#₁, sum of each time plasma insulin values in i.v.GTT.

#₂, see Figure 1.

Table 4. Values of Body Weight, Fasting Plasma Glucose, Plasma Basal Insulin and Σ Insulin, Plasma Free Fatty Acid (FFA), Plasma Triglyceride (TG) and TGSR in Rabbits both Before (bef.) and After (aft.) Cortisone Acetate Treatment.

Rabbit	Weight		Glucose		Basal Insulin		Σ Insulin		FFA		TG		production rate	
	bef.	aft.	bef.	aft.	bef.	aft.	bef.	aft.	bef.	aft.	bef.	aft.	bef.	aft.
	kg		mg/dl		μ U/ml		μ U/ml		μ Eq/L		mg/dl		mg/min	
1	2.70	2.86	92	136	12.0	12.1	53.9	---	455	505	49	277	2.05	2.27
2	2.70	2.76	107	122	7.7	10.0	49.7	84.0	360	460	55	520	1.57	2.27
3	2.40	2.56	113	98	5.1	13.2	32.1	77.5	280	420	58	214	1.72	2.45
4	2.05	2.18	91	81	10.0	11.3	45.8	49.5	330	465	42	466	---	3.71
5	2.16	2.24	95	81	10.0	17.5	58.2	108.6	325	600	29	721	---	2.95
6	2.10	2.22	119	122	5.1	12.4	38.5	67.7	300	460	49	517	---	2.57
Mean	2.36	2.47	102.8	106.7	8.3	12.8*	46.4	77.5*	341.7	485.0**	47.0	452.5***	1.78	2.70**
* SEM	± 0.13	± 0.12	± 4.8	± 9.5	± 1.2	± 1.0	± 4.0	± 9.7	± 25.3	± 25.5	± 4.3	± 75.0	± 0.14	± 0.23

* $p < 0.02$ (v.s. bef.)** $p < 0.01$ (v.s. bef.)*** $p < 0.001$ (v.s. bef.)

(2) 表-3のように血漿TGレベルは対照群 51.1 ± 7.7 mg/dlに比べE-Ac群 452.5 ± 75.0 mg/dlでは著増し($p < 0.001$), TGSRは対照群 1.42 ± 0.19 mg/minに比べE-Ac群 2.70 ± 0.23 mg/minでは有意に増加していた($p < 0.001$).

(3) 表-4のように同一家兎に対するE-Ac投与前後では、体重、空腹時血糖は前値に比べ有意差はないが、血漿空腹時IRI, Σ IRI (i.v.GTT時の各IRI値の総和), FFA, TGレベルおよびTGSRはE-Ac投与後有意に増加した。

(4) 図-8のように、同一家兎に対するE-Ac投与前後のi.v.GTTではE-Ac投与後60と120分の血糖値は有意に増加し、血漿IRIは前、30および120分で有意に増加し、血漿FFAは各時間で有意に増加していた。

(5) E-Ac投与後、前値に対し有意の増加を示した空腹時血漿IRI, FFA, Σ Glucoseおよび Σ IRIとTGSRとの相関を検討したが、 Σ GlucoseとTGSR($p < 0.05$)および空腹時血漿IRIとTGSR($p < 0.01$)との間に有意の正の相関を認めた。

考 案

家兎に対しCortisone Acetate (E-Ac) 3mgおよび10mg/kg/日を投与すると、(1)血糖上昇(10mg/kg/日に著明)、(2)血漿インスリン・レベルの上昇、(3)血漿FFAレベルの上昇、(4)血漿TGレベルの上昇などが観察された。これらの代謝異常の間には密接な関連性が推測されるが、今回著者はGC投与後の高TG血症の発現機序に焦点を絞り基礎的な検討を試みた。

GC投与後のリポ蛋白電気泳動像はPre- β の著増を特徴とし、GC投与後にはVLDL-TG量が著増しており、さらによりTG-richなVLDLが存在する可能性があること、VLDL-TG量と血漿TGレベルとは極めて高い正の相関を示すことなどからGC投与後の高TG血症は主にVLDL-TG量増加により惹起され则认为られる。

このような高TG血症の発現機序としては血中へのVLDL-TG流入増加、血中からのVLDL-TG除去の減少および両者の組み合わせが考えられる。肝などで合成されたVLDLの血中への分泌率は動物にTriton WR-1339を静注し間接的に算出することができる。すなわち、Tritonは血中よりのTG除去を阻止することが知られており、その結果、Triton静注後のTGレベルはTriton静注後新たに合成されて血中へ放出されたVLDL量を反映しているものと仮定されている²⁰。一方、Lipoprotein lipase (LPL)はVLDLの除去と密接に関連していることが知られており^{21,10}、そのLPLの機能状態を間接的に知るために以前からPost-heparin lipolytic activity (PHLA)が測定されている。

Fig. 8 Plasma glucose, IRI and FFA levels in intravenous glucose load (1g/kg) of rabbits before (○—○) and after (●---●) cortisone acetate (3mg/kg/day) treatment.

Triton WR-1339は血中からのリポ蛋白の除去を90%以上阻止すると考えられている^{21) 24)}。もし、GC投与後の高TG血症が主として血中からのリポ蛋白除去の低下により惹起され、血中へのTG流入増加によらないとすれば、Triton WR-1339静注後の血漿TGレベルの増加はE-Ac処置群と生食対照群とで同程度であるべきである。しかし、E-Ac処置群ではTriton静注後の血漿TGレベルの増加が有意に大であるとの著者の成績は、この高TG血症は血中へのVLDL流入増加によるとの考え²³⁾を支持するものである。ところで、

Tritonは正常ラットでは90%以上のリポ蛋白の除去を阻止する²⁰という成績があるが、GC投与時にはこの阻止率が変化しうる可能性を考慮せねばならない。しかし、たとえば、E-Ac投与群ではTritonのリポ蛋白除去を阻止する程度が90%から100%に増加したと仮定しても生食群でそれが50%前後にまで低下しなければ、生食群と、その約2倍を示したE-Ac投与群のTGSRを同程度と解釈することはできず、この仮定はむしろ成り立たないと思われる。一方、GC投与によりTritonがリポ蛋白除去を阻止する程度が生食群より低下すると仮定するとTGSRはGC群では生食群より低目に算出されていることになり、GC投与後の高TG血症の原因は血中へのTG流入増加によるとの考えをさらに支持することになる。

また、Reaven, E.P.らは、GC処置後にはラット肝のゴルジ装置内のVLDL顆粒の数と大きさが増加することを観察し、同時に認められたTGSRの増加と併わせて、GCは肝のVLDL合成を増加させ高TG血症を惹起すると考えた²³。

GC処置群で観察された血中TG上昇を説明するに足るPHLA減少を認めなかった今回の著者の成績は、またGCはLPLに影響を与えずに肝などでのVLDL合成増加により高TG血症を惹起させるという可能性を支持する。PHLAがGC処置群で有意の減少を示さなかったという著者の成績は、GC治療を受けた腎移植患者⁴⁾やリウマチ疾患患者²⁷⁾で正常なPHLAが認められたという報告と一致するが、一方、最近ラット脂肪組織のLPL活性は急性²²⁾および慢性^{4) 5)}のDexamethasone投与後に減少すると報告されている。

これまでのLPLは著者のようにPHLAを測定することにより間接的に評価されてきたが、PHLAはheterogenousなものでありいくつかの組織由来のLipaseを含むことが示されている¹⁰⁾ので、GC処置家兎で正常なPHLAが認められた今回の成績から、GC投与後にラット脂肪組織でLPL活性の減少を認めたという前述の報告を必ずしも否定することはできない。例えば、最近、合成AndrogenであるOxandroloneは脂肪組織由来の血漿Lipase活性を変化させずに肝由来のLipase活性を増加させる⁷⁾と報告されており、この事実はSteroidsがLipase活性に及ぼす影響に関して組織特異性を有する可能性を示唆するものと思われる。GC投与時のPHLAに関しても肝性および肝外性などに分別測定すべき余地を今後に残している。

GCは末梢組織での糖利用を低下させ^{19) 20)}、また肝での糖産生を亢進させる¹⁶⁾ことにより血糖上昇をもたらすと考えられる。一方、GC投与後の高インスリン血症の原因としては、今述べたような血糖上昇^{16) 17) 19) 20)}やGCの膵β-cellへの直接作用¹³⁾などが考えられるが、惹起された高インスリン血症はGC投与後の脂質代謝を調節する一要因であると考えられる。VLDL-TGと血漿インスリンレベル、およびTGSRと血漿インスリンレベルとの間に正の相関がみられた事実はかようなインスリンの役割を示唆している。最近、DiamantとShafrir⁵⁾はラットにDexamethasoneを投与すると高インスリン血症が惹起され、その結果、脂肪合成の律速酵素であるAcetyl-CoA-Carboxylaseが誘導され、空腹時でもFFAがケトン体に酸化される程度を最少限にとどめてTGへのエステル化を促進させ、また脂肪酸新合成を増加させて内因性TG産生を増加させる可能性を示唆している。

GC投与により惹起される変化のひとつに脂肪分解の亢進がある。その機序はまだ明らかではないが、GCの直接作用^{6) 8) 11)}か前述のような糖代謝障害の結果として惹起されと考えられる。その結果増加した血中FFAの多くはVLDL-TG産生に向けられてTGSRの増加に反映されていると考えられ、血漿FFAレベルとVLDL-TG量との間に認められた有意の正の相関がこの可能性を示唆している。

最後にグルカゴンの関与については、Marco, J.らが近年GC投与後の高グルカゴン血症を報告しており¹⁸⁾、グルカゴンは血糖上昇、インスリン分泌刺激、脂肪分解亢進などの諸作用をもつことが明らかにされており、グルカゴンとGC投与後の諸代謝異常との関連性について今後検討すべき余地を残している。

以上、今回の成績から家兎におけるGC投与後の高TG血症は主に血中へ流入するVLDL-TG増加によるものと考えられ、その背景としては血中FFAレベルの増加、高インスリン血症などが重要と思われる。

結 語

雄家兎に Cortisone Acetate (E-Ac) を投与したところ以下の結果を得た。

(1) E-Ac 投与 8 日目には、空腹時血糖の上昇、高インスリン血症、血漿 FFA レベルの上昇、高 TG 血症が惹起された。

(2) E-Ac 投与後の血漿リポ蛋白電気泳動像は Pre- β の著増を特徴とし、また VLDL-TG 量の著増が認められた。

(3) E-Ac 投与 8 日目の 空腹時血漿 FFA と VLDL-TG レベルとの間に正の有意の相関があった ($p < 0.001$)。

(4) 同じく空腹時血漿 IRI と VLDL-TG レベルの間にも有意の正の相関があった ($p < 0.01$)。

(5) 空腹時血糖と FFA ($p < 0.01$) および IRI レベル ($p < 0.05$) との間にも有意の正の相関を認めた。

(6) PHLA に関しては、対照群と E-Ac 処置群との間に有意差は認められなかった。

(7) TG 分泌率 (TGSr) に関しては、対照群 $1.42 \pm 0.19 \text{ mg/min}$ に比べ E-Ac 群 $2.70 \pm 0.23 \text{ mg/min}$ では有意に増加していた ($p < 0.001$)。

(8) i.v.GTT では、E-Ac 投与後には耐糖能の低下、高インスリン血症および血漿 FFA レベルの上昇が認められ、 $\Sigma \text{Glucose}$ と TGSr ($p < 0.01$) および空腹時血漿 IRI レベルと TGSr ($p < 0.05$) との間に有意の正の相関を認めた。

以上の結果から、家兎における GC 投与後の高 TG 血症は主に肝での TG 産生増加によると推測され、その背景としては GC 投与により惹起された血漿 FFA レベルの上昇、高インスリン血症、血糖上昇などが考えられた。

謝 辞：稿を終わるに臨み御指導と御校閲を賜った恩師・竹田亮祐教授に深甚なる謝意を捧げます。終始、研究の場を御提供下さり、さらに直接御指導下さった馬淵宏講師に深甚なる謝意を表します。そして、日夜労を共にした上野敏男、井上とおる両学士に深く感謝致します。

なお、本論文の要旨の一部は、それぞれ第49回および第50回日本内分泌学会総会において講演発表された。

文 献

- 1) Bagdade, J.D., Yee, E., Albers, J. and Pykalisto, O.J.: Glucocorticoids and triglyceride transport: Effects on triglyceride secretion rates, lipoprotein lipase, and plasma lipoproteins in the rat. *Metabolism* 25: 533-542, 1976.
- 2) Blanchette-Mackie, E.J., Scow, R.O.: Sites of lipoprotein lipase activity in adipose tissue perfused with chylomicrons. Electron microscope cytochemical study. *J. Cell Biol.* 51: 1-25, 1971.
- 3) Boberg, J. and Carlson, L.A.: Determination of heparin-induced lipoprotein lipase activity in human plasma. *Clin. Chim. Acta* 10: 420-427, 1964.
- 4) Casaretto, A., Marchioro, T.L., Goldsmith, R. and Bagdade, J.D.: Hyperlipidemia after successful renal transplantation. *Lancet* 1: 481-484, 1974.
- 5) Diamant, S., Shafir, E.: Modulation of the activity of insulin-dependent enzymes of lipogenesis by glucocorticoids. *Europ. J. Biochem.* 53: 541-546, 1975.
- 6) Divakaram, P. and Friedmann, N.: A fast in vitro effect of glucocorticoids on hepatic lipolysis. *Endocrinology* 98: 1550-1553, 1976.
- 7) Enholm, C., Huttunen, J.K., Kinnunen, P.J., Miettinen, T.A., Nikkilä, E.A.: Effect of

- oxandrolone treatment on the activity of lipoprotein lipases, hepatic lipase and phospholipase A, of human post-heparin plasma. *New Engl. J. Med.* 292: 1314–1317, 1975.
- 8) Fain, J.N., Scow, R.O. and Chernick, S.S.: Effects of glucocorticoids on metabolism of adipose tissue in vitro. *J. Biol. Chem.* 238: 54–58, 1963. 9) Friedman, M., Van den Bosch, J., Byers, S.O. and George, S.S.: Effects of cortisone on lipid and cholesterol metabolism in the rabbit and rat. *Amer. J. Physiol.* 208: 94–105, 1965.
- 10) Garfinkel A.S., Baker, N. and Schotz, M.D.: Relationship of lipoprotein lipase activity to triglyceride uptake in adipose tissue. *J. Lipid Res.* 8: 274–280, 1967.
- 11) Goodman, H.M.: Permissive effects of hormones on lipolysis. *Endocrinology* 86: 1064–1074, 1970. 12) Havel, R.J., Eder, H.A. and Bragdon, J.H.: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.* 34: 1345–1353, 1955. 13) 川合厚生, 葛谷信貞: グルココルチコイドがもたらす高インスリン血症の機序について, *糖尿病* 18: 372–378, 1975.
- 14) Krauss, R.M., Windmueller, H.G., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S.: Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat post-heparin plasma. *J. Lipid Res.* 14: 286–295, 1973. 15) Krotkiewski, M., Björntorp, P. and Smith, U.: The effect of long-term dexamethasone treatment on lipoprotein lipase activity in rat fat cells. *Horm. Metab. Res.* 8: 245–246, 1976. 16) Levine, R.: Analysis of actions of hormonal antagonists of insulin. *Diabetes* 13: 362–365, 1964. 17) Marco, J., Melani, F., Goberna, R., Rott, W.H., Pfeiffer, E.F.: Einfluß der Prednisolonbehandlung auf die Insulinsekretion der Ratte. *Diabetologia* 4: 365–369, 1968. 18) Marco, J., Calle, C., Román, D., Díaz-Fierros, M., Villanueva, M. and Valverde, J.: Hyperglucagonism induced by glucocorticoid treatment in man. *New Engl. J. Med.* 288: 128–131, 1973.
- 19) Munck, A.: Glucocorticoid inhibition of glucose uptake by peripheral tissues: Old and new evidence, molecular mechanisms, and physiological significance. *Perspect. Biol. Med.* 14: 265–269, 1971. 20) Olefsky, J.M. and Kimmerling, G.: Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism. *Amer. J. Med. Sci.* 271: 202–210, 1976.
- 21) Otway, S., Robinson, D.S.: The use of non-ionic detergent (Triton WR-1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions. *J. Physiol.* 190: 331–332, 1967. 22) Pova, H., Jr., Calado, A.N.A.: Dexamethasone and clearing factor. *Acta Physiol. Lat. Am.* 17: 326–327, 1967.
- 23) Reaven, E.P., Kolterman, O.G. and Reaven, G.M.: Ultrastructural and physiological evidence for corticosteroid-induced alterations in hepatic production of very low density lipoprotein particles. *J. Lipid Res.* 15: 74–83, 1974. 24) Recknagel, R.O.: Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 19: 145–208, 1967.
- 25) Rudman, D. and Di Girolamo, M.: Effect of adrenal cortical steroids on lipid metabolism. In *Human Adrenal Cortex*. N. Christy, editor. Harper and Row, New York. 241–255, 1971. 26) 斎藤玲子, 雨宮禎子, 赤沼安夫: 人血漿 Postheparin Lipolytic Activity に関する研究 — 測定法の基礎的検討および肥満者, 糖尿病患者の PHLA — . *糖尿病* 19: 155–167, 1976.
- 27) Stern, M.P., Kolterman, O.G., Fries, J.F., Mc Devitt, H.O. and Reaven, G.M.: Adreno-

cortical steroid treatment of rheumatic diseases. Effects on lipid metabolism. Arch. Intern. Med. 132: 97-101, 1973.