高脂肪無糖質食摂取ラットにおける糖新生亢進と 尿素生成との関連

高 瀬 幸 子

静岡女子大学家政学部食物学科

Interrelationship between Gluconeogenesis and Ureogenesis in Rats Fed a High Fat, Carbohydrate-Free Diet

Sachiko TAKASE

*Department of Food and Nutrition, Faculty of Science of Living,
Shizuoka Women's University, Shizuoka, 422*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 38, 109~116 (1985)

The study was carried out to observe the effects of high fat feeding on the metabolic pathway of gluconeogenesis as opposed to high protein feeding. The rats were fed on a high protein-carbohydrate free (HP) diet, a high fat-carbohydrate free diet consisting of either corn oil (HF-corn oil) or medium chain triglyceride (HF-MCT), and a control diet (high carbohydrate) for 10 days.

A high activity of hepatic glucose-6-phosphatase (G6Pase) was shown in the 3 groups except for the control group. Despite elevated gluconeogenesis in those groups, the activity of hepatic enzyme of glutamic alanine transaminase (GAT), pyruvate carboxylase (PC) and arginase was different between rats fed the HF-corn oil, HF-MCT and HP diets. The activities of GAT and arginase increased in the HP group, but PC activity did not increase in comparison with the control group. The HF-corn oil fed rats showed an enhancement of PC activity, but not GAT and arginase activity. The HF-MCT feeding, however, did not induce such a high activity of PC. It rather resulted in higher GAT and arginase activities than that observed with the HF-corn oil feeding, although the activities were less than that in rats fed the HP diet.

When animals were starved for 24 hours, the levels of G6Pase activity in rats of the 3 groups were decreased to almost the same level as in control rats. The findings concerning the relative activity of GAT and PC among the fed groups were even observed in the starved rat groups. Arginase activity was low in HF-corn oil and HF-MCT rats in starved state.

These results suggest that a different mechanism from the one occurring in high protein feeding is responsible for stimulating glucose synthesis by high fat (long chain) feeding, and that acetyl CoA, which is formed in large amounts as a result of accelerated fatty acid oxidation, may promote gluconeogenesis without ureogenesis acceleration.

(Received June 13, 1984)

糖新生系は解糖系とともに常時働いていて、両者の働きの平衡状態の傾きによってグルコース合成あるいは分解が優先することになる¹⁾。食餌から十分量の糖質が供給されない場合は、その合成が優先して^{2)~4)}、グルコースは肝臓から血中へ供給され血糖の恒常性が維持されることはよく知られている。

Eisenstein ら⁵⁾は、高タンパク質-無糖質食はグルカゴン分泌を増加して肝のグルコース合成を高めるが、高脂肪-無糖質食による糖新生亢進には、そのようなホルモン分泌の増加を伴っていないと報告している。また、

既報⁶⁾に示したように低糖質-高脂肪食を摂食した動物では、高糖質-低脂肪食の動物に比べ、glucose-6-phosphatase 活性が上昇するのに、arginase 活性は低下し尿中窒素排泄量の減少が観察され、糖新生亢進時には必ずしも尿素生成が増大するとは限らないことが示唆された。

このように、肝臓での糖新生亢進に、動物の摂取した食餌組成が微妙に影響し、関連のホルモン分泌レベルや律速酵素活性などの変動、さらにそれらと尿素生成との関連は一樣でないものと思われる。

最近、糖新生は尿素生成と密接に関連していて、糖新

Table 1. Diet composition.

Ingredient	Control	High-protein (HP)	High-fat	
			Corn oil (HF-corn oil)	MCT (HF-MCT)
Casein	20	85	20	20
Sucrose	65	0	0	0
Corn oil	5	5	35	2
MCT oil ^{a)}				33
Cellulose powder ^{b)}	5	5	40	40
Salt mixture ^{c)}			4	
Vitamin mixture ^{d)}			0.5	
Choline chloride			0.5	
Calorie (kcal/100 g)	385	385	395	395

^{a)} Medium chain triglyceride supplied by Ono Pharmaceutical Co., Osaka.

^{b)} Toyo Roshi Co., Tokyo.

^{c)} Harper's salt mixture purchased from Oriental Yeast Co., Ltd.

^{d)} The following vitamins were made up to 100 g by adding glucose : vitamin A acetate, 434 mg ; vitamin D₂, 65.0 mg ; vitamin E acetate, 3.1 g ; vitamin K₃, 20 mg ; niacine, 7.38 g ; inositol, 3.69 g ; pyridoxine-HCl, 260 mg ; thiamine-HCl, 260 mg ; riboflavin, 260 mg ; calcium pantothenate, 550 mg.

生充進時には尿素生成も亢進する^{7,8)}という成績もみられるが、逆の関係を示す報告⁹⁾もあり、一定の見解が得られていないように思われる。それらの成績は一般に遊離細胞や灌流肝を用いた実験成績が多く、*in vivo*での観察は少ない。

そこで本研究では、高脂肪食による糖新生充進時の代謝変動は高タンパク質食のそれと異なり、その違いが糖新生と尿素生成との関連に影響を及ぼすのか否かを明らかにするための検討を行なった。なお、高脂肪食の場合にその脂肪酸の酸化を通して起こる代謝変動が、糖新生と尿素生成との関連を支配することが考えられるので、長鎖脂肪とは生化学的性質の異なる中鎖脂肪 (medium chain triglyceride, MCT)¹⁰⁾を用いた高脂肪食を対比させ観察した。また、それらの食餌の影響をよりはっきり把握する意味で、絶食ラットの以上の事柄についての検討も加えた。

実験方法

1. 実験動物

離乳直後の Wistar 系ラットを標準固形飼料 MF (オリエンタル酵母(株)) で 3~4 日間予備飼育したのち、動物を 4 群に分け、対照群に高糖質食群 (control) を、試験群に高タンパク質食群 (HP) および高脂肪食群の corn oil 群 (HF-corn oil) と MCT 群 (HF-MCT) の計 3 群をおいた。各群の餌料組成は Table 1 に示した。試験食群はいずれも無糖質食とした。

食餌および水は自由に与え 10 日間飼育した。飼育期

間終了後、各群の動物を 2 分して、一方はただちに (摂食ラット)、他方はさらに 24 時間絶食させたのち (絶食ラット)、解剖に付した。その際、動物を午前 11 時から 12 時の間に断頭屠殺し、血液と肝臓を採取した。その一部をその日のうちに血糖値測定に供し、残りは -20°C に保存して血清遊離脂肪酸の測定に用いた。肝臓は氷冷生理食塩水で洗い付着物を取り除いた後、濾紙にて余分の水分を拭き取り、全重量を秤量した。肝臓の半分を酵素液の調製に供し、残り半分をグルコース測定に供するまで -20°C で保存した。

2. 酵素活性の測定

Glutamic alanine transaminase [EC 2.6.1.2, GAT] の酵素液としては、約 1 g の肝組織に 100 mM トリス塩酸-0.25 M ショ糖液 (pH 7.5) を加え 10% ホモジネイトとした後、10,000×g で 15 分間冷却遠心分離し、その上清画分を用いた。さらに、約 2 g の肝組織に 10 倍容の 0.25 M ショ糖液を用いてホモジナイズした後、700×g、10 分間冷却遠心分離した上清の 1/3 を arginase [EC 3.5.3.1] 活性の測定に用い、残りの上清を再び 10,000×g で 15 分間遠心して得られた上清画分を glucose-6-phosphatase [EC 3.1.3.9, G6Pase] 活性測定に用いた。さらに沈渣を 5 倍容の氷冷水を用いてホモジナイズしたものを pyruvate carboxylase [EC 6.4.1.1, PC] の酵素液とした。

G6Pase 活性は Segal らの方法¹¹⁾により測定し、反応により生成したリンを Fiske-SubbaRow 法を改良した Bartlett 法¹²⁾により定量した。GAT 活性は Segal らの

Table 2. Food intake and weight gain of rats fed control, high protein and high fat diets.

Groups	Initial body weight (g)	Weight gain ^{b)} (g)	Food intake (g/day)
Control	45±1 ^{a)}	46±2	9.3±0.6
HP	45±1	30±2 ^{*c)}	6.3±0.4 ^{***}
HF-corn oil	44±1	41±1 ^{**}	8.5±0.4
HF-MCT	45±1	17±1 ^{***}	5.2±0.8 ^{***}

^{a)} Values are means±SEM for 14 animals in each group.

^{b)} Weight gain after 10 days on the diets.

^{c)} Values significantly different from the control, using *t*-test analysis: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$;

*** $p < 0.001$.

方法¹³⁾により測定し、PC 活性は Utter らの方法¹⁴⁾に従い測定した。それらは、反応系に共役させた酵素 (GAT は乳酸脱水素酵素, PC はリンゴ酸脱水素酵素) の反応により消費された NADH 量を 340 nm での吸光度の減少により求めて酵素活性を測定した。arginase 活性は Schimke の方法¹⁵⁾により測定した。

酵素液のタンパク質量は Lowry 法¹⁶⁾によりウシ血清アルブミンを標準として測定した。

3. 血清グルコースおよび遊離脂肪酸量の測定

血清グルコースは glucose oxidase 法¹⁷⁾によりグルコスタット (藤沢薬品株式会社) を用いて定量した。血清遊離脂肪酸量は久城らの方法¹⁸⁾により測定した。

4. 肝グリコーゲンおよび遊離脂肪酸量の測定

肝グリコーゲンは Seifter らの方法¹⁹⁾を一部修正して定量した。精秤した 0.5 g 前後の肝組織を 30% KOH を用いて加熱溶解し、定量的にその一部をとり 95% アルコールと 6% Na₂SO₄ を用いて析出させ、アンスロン試薬により比色定量した。

肝の遊離脂肪酸量の測定にあたり、Eisenstein らの方法²⁾に従って精秤した 1 g 前後の肝組織に 5 倍容の 1% KCl-1 mM EDTA 溶液を加えてホモジナイズした。その一部を希釈したものにつき血清に用いた同じ方法により脂肪酸量を測定した。

実験結果

餌料摂取量と体重増加量は Table 2 に示した。HP 群と HF-MCT 群は、餌料摂取量が少なく体重増加量も対照群に比べ劣っていた。

1. 血糖値、血清遊離脂肪酸値および肝臓のグリコーゲンと遊離脂肪酸量

摂食ラットの血糖値は、試験群の 3 群とも対照群に比べ低い値を示し、とくに HF-MCT 群ではそれが顕著であった。これらの血糖値の低下は、無糖質食の影響によるものと思われる。一方、24 時間絶食により対照群、HP 群、HF-corn oil 群の 3 群では摂食時の 60~80%

の血糖値に低下したが、HF-MCT 群では絶食による血糖値の低下はみられず摂食ラットのそれと同じであった (Table 3)。

肝グリコーゲン量は、摂食ラットの場合に試験群の 3 群とも有意に少なく、とくに高脂肪食の 2 群は対照群の 1/3 以下であった。各群の動物は絶食によりほとんどの肝グリコーゲンを消費しわずかな量となった。注目されることに、試験群の 3 群とも絶食時の肝グリコーゲン量は、対照群に比べ有意に高値を示し約 5~8 倍量であった (Table 3)。このことは Eisenstein ら⁵⁾や Zaragoza ら²⁰⁾の観察に似ていた。

血清遊離脂肪酸値は、統計的有意差ではないが、摂食ラットの HP 群で増加の傾向を示した (Table 3)。この群では高タンパク質のためにグルカゴン分泌が亢進して²¹⁾、脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出が高まる傾向にある²²⁾と思われる。絶食時には、いずれの群の血清遊離脂肪酸値も摂食時に比べ 1.5~2 倍に著しく増加した。絶食時のそれらの値のうち HF-MCT 群は有意に高い値を示し、HP 群でも高値の傾向を示した (Table 3)。

肝遊離脂肪酸量は、摂食ラットの場合、HF-corn oil 群がどの群よりも高い値であった。HP 群と HF-MCT 群のそれはほぼ同じ量であったが、対照群よりは高い値であった (Table 3)。

2. 糖新生系酵素の活性に及ぼす高脂肪食の影響

高脂肪摂食の動物における糖新生過程の代謝変動に、高タンパク質食の場合との違いがあるかを検討するために、肝臓の G6Pase (Table 4), GAT (Fig.1), PC (Fig.2) の酵素活性を観察した。

摂食ラットの G6Pase 活性は、試験群のいずれも有意に高く、対照群の約 1.3~1.5 倍の活性上昇を示した。24 時間絶食により、それらの活性値は HF-MCT 群を除いた 2 群 (HP, HF-corn oil) では摂食ラットの約 80%の活性値に低下した。HF-MCT 群の絶食ラットの G6Pase 活性は、摂食ラットの値とほぼ同じであった。なお、絶食ラットの各群間の G6Pase 活性に有意差は認

Table 3. Effects of high protein and high fat diets on serum glucose and free fatty acids (FFA), and liver glycogen and FFA.

Groups	Serum glucose (mg/dl)	Serum FFA (μ Eq/l)	Liver glycogen (g/100 g)	Liver FFA (μ mol/g)
Fed				
Control	187 $\pm$ 7 ^{a)}	281 $\pm$ 46	6.5 $\pm$ 1.3	137 $\pm$ 5
HP	165 $\pm$ 5 ^{**b)}	336 $\pm$ 36	3.2 $\pm$ 0.4*	161 $\pm$ 3 ^{**}
HF-corn oil	157 $\pm$ 3 ^{***}	227 $\pm$ 12	2.0 $\pm$ 0.3 ^{**}	225 $\pm$ 10 ^{***}
HF-MCT	105 $\pm$ 9 ^{***}	291 $\pm$ 56	1.5 $\pm$ 0.1 ^{**}	156 $\pm$ 6*
Fasted (48 hr)				
Control	116 $\pm$ 6	435 $\pm$ 43	0.04 $\pm$ 0.01	88 $\pm$ 6
HP	121 $\pm$ 9	535 $\pm$ 37	0.34 $\pm$ 0.06 ^{***}	92 $\pm$ 10
HF-corn oil	128 $\pm$ 8	467 $\pm$ 55	0.21 $\pm$ 0.05 ^{**}	112 $\pm$ 9
HF-MCT	106 $\pm$ 4	592 $\pm$ 51*	0.33 $\pm$ 0.03 ^{***}	91 $\pm$ 8

^{a)} Values are means $\pm$ SEM for 8 fed rats and for 6 starved rats.

^{b)} Values significantly different from those of the corresponding control, using *t*-test analysis :

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Table 4. Effects of high protein and high fat diets on hepatic glucose-6-phosphatase activity.

Groups	G6Pase activity	
	Fed (μ mol/mg protein/10 min)	Fasted (24 hr) (μ mol/mg protein/10 min)
Control	30.4 $\pm$ 1.2 ^{a)}	35.4 $\pm$ 2.5
HP	41.5 $\pm$ 2.7 ^{*b)}	34.9 $\pm$ 1.3
HF-corn oil	45.4 $\pm$ 2.4 ^{***}	37.8 $\pm$ 2.6
HF-MCT	39.0 $\pm$ 2.0 ^{**}	37.8 $\pm$ 1.9

^{a)} Values are means $\pm$ SEM for 8 fed rats and for 6 starved rats.

^{b)} Values significantly different from the control, using *t*-test analysis : * $p < 0.02$; ** $p < 0.01$;

*** $p < 0.001$.

められなかった。

GAT 活性は、摂食ラットの HP 群と HF-MCT 群で著しく増大した。絶食ラットでも同じくそれら 2 群において増大したが、酵素活性レベルそのものは摂食ラットのそれより低い活性値であった。対照群と HF-corn oil 群では、摂食、絶食のいずれの条件でも GAT 活性はほぼ一定の低い活性値を示し変動しなかった。

興味深いことに高脂肪食の 2 群間で GAT 活性の様相に明らかな違いが観察された。HF-corn oil 群での糖新生亢進は、GAT 活性の上昇を伴っておらず、一方、HF-MCT 群ではアラニンからのビルビン酸生成の代謝経路が活発であることが示唆された。この違いは MCT の代謝に corn oil とは異なる面があることに起

Fig.1. Effects of high protein and high fat diets on glutamic alanine transaminase activity in rat liver.

The results presented represent the means $\pm$ SEM for 8 fed rats and for 6 starved rats.

* Symbol represents value different from those of other groups (without symbol), respectively as judged by *t*-test analysis ($p < 0.01$).

Fig. 2. Effects of high protein and high fat diets on pyruvate carboxylase activity in rat liver.

The results presented represent the means $\pm$ SEM for 8 fed rats and for 6 starved rats.

*Symbol represents value different from that of the control, as judged by *t*-test analysis ($p < 0.05$).

因するものと思われる。

PC 活性は、摂食ラットの HF-corn oil 群で有意に増大した。同じ高脂肪食の HF-MCT 群も対照群に比べ高い酵素活性の傾向を示したが、HF-corn oil 群ほどの活性増大にはならなかった。絶食ラットについても HF-corn oil 群は他群に比べ有意に高い活性値を示した。しかし HF-MCT 群では、もはや活性値は高まらなかった。このように高脂肪食の条件であっても、corn oil 群と MCT 群との間では、PC 活性の様相に違いが観察された。HP 群では、摂食、絶食のいずれの場合も PC 活性は対照群とほぼ同じであり、無糖質による糖新生亢進に対応していなかった。

絶食ラットの各群の PC 活性は、相対的に摂食ラットに比べ低下した。

PC 活性はアセチル CoA によるアロステリックな活性化がなされることが知られている²³⁾。したがって、摂食ラットにおける HF-corn oil 群の PC 活性の増大は、この群の肝遊離脂肪酸レベルが高かった事実 (Table 3)

Table 5. Effects of high protein and high fat diets on arginase activity.

Groups	Arginase activity	
	Fed (μ mol/mg protein/10 min)	Fasted (24 hr) protein/10 min)
Control	41.7 $\pm$ 2.1 ^{a)}	45.7 $\pm$ 1.3
HP	71.6 $\pm$ 9.5 ^{b)}	51.7 $\pm$ 4.0
HF-corn oil	28.2 $\pm$ 1.9 ^{**}	26.4 $\pm$ 1.0 ^{**}
HF-MCT	43.0 $\pm$ 1.9	27.5 $\pm$ 1.1 ^{**}

^{a)} Values are means $\pm$ SEM for 8 fed rats and for 6 starved rats.

^{b)} Values significantly different from the control, using *t*-test analysis: * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$.

に合致しており、肝アセチル CoA 量も増加しているものと推察される。

3. 尿素生成系酵素の活性に及ぼす高脂肪食の影響

糖新生亢進時の代謝変動に食餌脂肪の種類による違いがあるとすれば、糖新生と尿素生成との関連のうえにも、その影響があるものと思われる。そこで、尿素生成系酵素の arginase 活性を取りあげ観察した (Table 5)。

摂食ラットでは、HP 群がどの群よりも高い活性値を示した。高脂肪食の 2 群のうち、HF-corn oil 群は有意に低い arginase 活性であったが、HF-MCT 群は対照群と同程度の活性値を示した。これら 2 群は高脂肪食という同じ条件にありながら、arginase 活性の様相は明らかに違っていた。餌料摂取量は、むしろ HF-corn oil 群が HF-MCT 群より多くなっている (Table 2)、HF-corn oil 群のタンパク質摂取量は HF-MCT 群より多いと考えられるが、この群の arginase 活性が低値であった。

絶食ラットの arginase 活性は、対照群と HP 群がほぼ同じ活性値であったが、高脂肪食の 2 群とも有意に低く、対照群の約 60% の活性にとどまった。なお、HF-MCT 群については、摂食時の arginase 活性が対照群と同程度の活性値であった (Table 5) のが、絶食により活性は低下して HF-corn oil 群の活性レベルとなった。HF-corn oil 群は、摂食、絶食のいずれでも一貫して arginase 活性は低い値であった。これらは、二つの脂肪の代謝の違いが arginase 活性に影響を及ぼしていることを示唆している。

さらに、摂食、絶食いずれの場合も、各群の arginase 活性は G6Pase 活性上昇との間に関連はみられなかった。試験群のそれぞれは、終局的にグルコース合成が高まっても、糖新生過程の代謝変動は餌料組成により異なり、ひいては糖新生と尿素生成との関連も違ってくるということがわかった。

考 察

試験食群の摂食ラットでは、G6Pase 活性が対照群に比べ約 40% 上昇し、それは高タンパク質、高脂肪食の違いとは無関係に様に上昇した。しかし 24 時間絶食により、G6Pase 活性は摂食時の 80% となり、この時点で試験群と対照群との間に差がみられなくなった。この試験群での活性変動をもたらし要因の一つとして、絶食時には肝臓の糖新生基質量が摂食時に比べて減少^{23,24)}していることが推察される。

各群の絶食時血糖値はほぼ同じであったが、絶食時の肝グリコーゲン量は、値そのものは非常に小さいが、試験群が対照群の 5～8 倍量 (Table 3) であった。これは明らかに無糖質食の影響^{5,20)}を示しており、この絶食時の肝グリコーゲン量の高値は、試験群での肝グリコーゲン利用の減少を意味するのかもしれない。

試験群の 3 群では無糖質食により糖新生が亢進する条件にあり、摂食時の G6Pase 活性が様に上昇したにもかかわらず、GAT、PC の両活性は、高脂肪群と高タンパク質群との間で同じ様相を示さなかった。とくに HF-corn oil 群のそれらは、高タンパク質群とは大きな違いを示した。さらに 24 時間絶食後にも、GAT、PC の両活性は依然として試験群間で違いが観察された。これらはグルコースの血中放出が高まっても、その糖新生経路の代謝亢進の様相が、食餌条件によって異なることを示唆している。

ビルビン酸のミトコンドリアへの移行は、エネルギー利用だけでなく糖新生にとっても重要な役割を演じており、高タンパク質食^{25,26)}やグルカゴン²⁷⁾によりビルビン酸のミトコンドリアへの移行が亢進することが報告されている。高タンパク質食の動物では、血中グルカゴン値が増加^{5,21)}、それが肝 GAT 合成を増大²⁸⁾させるとも言われている。Rémésy ら²⁾によると、高タンパク質-無糖質食ラットの肝ビルビン酸量は減少するので、HP 群ではグルカゴン分泌を介しての GAT 活性の上昇の結果、ビルビン酸生成が増加してミトコンドリアへの移行が高まり、糖新生へのその利用も増大するものと思われる。

一方、高脂肪食群では、脂肪源が長鎖脂肪か中鎖脂肪かの違いにより糖新生系酵素活性の上昇に違いがみられた (Fig.1, 2)。摂食ラットの HF-corn oil 群の PC 活性は著明に増大したが、これはこの群の肝遊離脂肪酸量の増加 (Table 3) と関連していると思われる。実際に肝のアセチル CoA 量を測定していないので肝遊離脂肪酸量から類推すると、HF-corn oil 群のアセチル CoA 量が増加して PC の活性化が高まったのであろう。HF-MCT 群では、HF-corn oil 群ほどに PC 活性は高まらず、む

しろ GAT 活性が増大した。この現象は摂食、絶食のいずれの条件でも観察され、むしろ高タンパク質群に近いパターンを示した。これは MCT の特異な生理作用に起因した何らかの代謝変動が影響しているものと思われる。MCT は長鎖脂肪に比べ肝臓でのアセチル CoA、CO₂、ケトン体への異化が早いことや¹⁰⁾、MCT 投与による肝臓での脂肪酸合成の亢進²⁹⁾が知られている。このように MCT の代謝が早いという特色から類推して、HF-MCT 群では、肝臓中のアセチル CoA 量が HF-corn oil 群に比べ少なくなっているのではないかと考える。そのために PC の活性化が、HF-corn oil 群ほどに起こらなかったものと思われる。

ミトコンドリア内オキサロ酢酸の炭素骨格の細胞質への移動は、細胞質内の NADH/NAD 比の上昇により抑制され、その結果糖新生は低下することが報告されている²³⁾。そこで細胞質の還元単位 (NADH) はミトコンドリアへ移され電子伝達系により酸化される機構が働いて、NADH/NAD 比の上昇が改善されると糖新生は促進³⁰⁾、その機構にリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルと α -グリセロン酸シャトルが考えられている^{30,31)}。

Rémésy らの報告²⁾によると、高タンパク質-無糖質食のラットでは肝細胞中グルタミン酸が増加してアスパラギン酸が減少しており、それらは糖新生におけるアスパラギン酸の利用増大を示唆している。したがって HP 群の摂食ラットでは、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルが亢進して、オキサロ酢酸の炭素骨格はアスパラギン酸の形で細胞質への移行が増加し、流入した細胞質内アスパラギン酸は α -ケトグルタール酸とのアミノ基転移反応に用いられるほかに、尿素サイクルにはいりフマル酸からのリンゴ酸生成が増加⁹⁾して糖新生を亢進させているのであろう。本研究では細胞質とミトコンドリアを一緒にして arginase 活性を観察している (Table 5) が、この群での細胞質内 arginase 活性の上昇の可能性が十分に考えられる。さらに、HP 群ではリンゴ酸-アスパラギン酸シャトル亢進のためミトコンドリアのグルタミン酸量が増加^{23,25,32)}して、PC 活性が抑制 (Fig.2) された可能性³³⁾も考えられる。

一方、高脂肪食では、HF-corn oil が群の糖新生系酵素の活性上昇に対し arginase 活性の増大を伴っておらず、しかし肝遊離脂肪酸量が増加していた (Table 3)。この事実から推察すると、HF-corn oil 群では、高タンパク質群の場合のようにリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルの進行は考えにくい。それよりは、脂肪酸の酸化に伴うミトコンドリア内のアセチル CoA 量の増加³⁴⁾がオキサロ酢酸の炭素骨格をアスパラギン酸よりはリンゴ酸の形で細胞質へ流出させて、糖新生系が進行するのではないかと考える。もしそうであれば、この群の糖新生亢

進時に arginase 活性上昇を伴わない可能性は十分にあるといえる。

HF-MCT 群では摂食ラットの arginase 活性は HF-corn oil 群に比べ有意に高まっていた (Table 5)。ゆえに尿素生成系酵素活性と糖新生亢進との関連は、HF-corn oil 群の場合とは明らかに異なっている。この違いが何によって引き起こされているのかはよくわからない。しかしこの二つの脂肪の代謝の違い¹⁰⁾が関連しているものと思われる。MCT の代謝特性がもたらすミトコンドリア内の環境変化が何らかのかかわりをもつものと考えられる。HF-MCT 群の絶食ラットでは、arginase 活性は HF-corn oil 群と同レベルに低下してもはや絶食時には MCT の影響はみられなくなった。

高脂肪食群の結果から示唆されることは、脂肪酸の酸化の程度により、糖新生亢進と尿素生成との関連が違ってくるといことである。さらに本研究により、高脂肪食(長鎖脂肪)による糖新生亢進の代謝変動は、高タンパク質食のそれとは異なることが認められた。そのメカニズムの詳細について今後さらに検討の必要がある。

要 約

高脂肪食による糖新生亢進時の代謝変動は高タンパク質のそれとは異なり、ひいては糖新生と尿素生成との関連にも違いをもたらすかどうかを検討した。

離乳直後の雄ラットを、無糖質からなる高タンパク質食および高脂肪食 (corn oil と MCT) の 3 群の試験群と対照群 (高糖質食) に分け、10日間飼育し次の結果を得た。

1) 摂食ラットでは、G6Pase 活性はどの試験群でも増大した。しかし GAT, PC, arginase 活性は各群間一様ではなかった。すなわち、(1) HP 群では、GAT と arginase 活性が上昇したが、PC 活性は増大しなかった。(2) 高脂肪食群の corn oil 群では、PC 活性が著しく増大したが、GAT と arginase 活性は増大しなかった。MCT 群では PC 活性は増大せず、むしろ GAT 活性が増大した。

2) 24 時間絶食により、3 試験群の G6Pase 活性は摂食ラットの約 80% に低下し、対照群とほぼ同じ活性レベルとなった。しかし各群間の GAT, PC 活性の違いは、摂食ラットの場合のそれと同じであった。高脂肪食の 2 群とも絶食時の arginase 活性は他群に比べ低値であった。

以上より、高脂肪 (長鎖) 食による糖新生亢進過程の代謝変動は、高タンパク質のそれとは異なり、尿素生成系酵素活性の増加を伴っていないことがわかった。

本研究の概要は昭和 55 年 8 月、第 34 回日本栄養・食糧学会総会で発表した。

文 献

- 1) Kusaka, M. and Ui, M. : *Am. J. Physiol.*, **232**, E 145 (1977)
- 2) Rémésy, C. and Demigné, C. : *J. Nutr.*, **112**, 60 (1982)
- 3) Ross, B.D., Hems, R. and Krebs, H.A. : *Biochem. J.*, **102**, 942 (1967)
- 4) Evans, R.M. and Scholz, R.W. : *J. Nutr.*, **101**, 1127 (1971)
- 5) Eisenstein, A.B., Strack, I. and Steiner, A. : *Diabetes*, **23**, 869 (1974)
- 6) Takase, S., Morimoto, A., Moriuchi, S. and Hosoya, N. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **27**, 219 (1981)
- 7) Krebs, H.A., Lund, P. and Stubbs, M. : *Gluconeogenesis* (Hanson, R.W. and Mehlman, M.A., eds.), 269 (1967), John Wiley & Sons, Inc., New York
- 8) Sugano, T., Shiota, M., Khno, H. and Shimada, M. : *J. Biochem.*, **91**, 1917 (1982)
- 9) Meijer, A.J., Gimpel, J.A., Deleeuw, G., Tishler, M.E., Tager, J.M. and Williamson, J.R. : *J. Biol. Chem.*, **253**, 2308 (1978)
- 10) Greenberger, N.J. and Skillman, T.G. : *New Engl. J. Med.*, **280**, 1045 (1969)
- 11) Segal, H.L. and Washko, M.E. : *J. Biol. Chem.*, **234**, 1937 (1959)
- 12) Fiske, C. and SubbaRow, Y. : *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925)
- 13) Segal, H.L., Beattie, D.S. and Happer, S. : *J. Biol. Chem.*, **237**, 1914 (1962)
- 14) Utter, M.F. and Keech, D.B. : *J. Biol. Chem.*, **238**, 2603 (1963)
- 15) Schimke, R.T. : *J. Biol. Chem.*, **237**, 459 (1962)
- 16) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- 17) Dahlquist, A. : *Anal. Biochem.*, **7**, 18 (1964)
- 18) 久城英人, 高野圭以, 會山浩吉, 福井 敏 : 臨床病理, **18**, 833 (1970)
- 19) Seifter, S., Dayton, S., Novic, D.B. and Muntwyler, E. : *Arch. Biochem.*, **25**, 191 (1950)
- 20) Zaragoza, Z. and Felber, J.P. : *Horm. Metab. Res.*, **2**, 323 (1970)
- 21) Eisenstein, A. B. and Strack, I. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **158**, 578 (1978)
- 22) Unger, R.H., Eisenstraut, A.M. and Madison, L.L. : *J. Clin. Invest.*, **42**, 1031 (1963)
- 23) Scrutton, M.C. and Utter, M.F. : *Annu. Rev. Biochem.*, **37**, 249 (1968)
- 24) Metzger, B.E., Hare, J.W. and Freinkel, N. : *J. Clin. Endocrinol.*, **33**, 869 (1971)
- 25) Rémésy, C., Demigné, C. and Aufrère, J. : *Biochem. J.*, **170**, 321 (1978)
- 26) McDaniel, H.G. : *Am. J. Physiol.*, **236**, E 501 (1979)
- 27) Halestrap, A.P., Scott, R.D. and Thomas, A.P. : *Int. J. Biochem.*, **11**, 97 (1980)
- 28) Rosen, F., Roberts, H.R. and Nichol, C.A. : *J. Biol. Chem.*, **234**, 476 (1959)
- 29) Takase, S., Morimoto, A., Nakanishi, M. and Muto, Y. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 43 (1977)
- 30) Dawson, A.G. : *Trends Biochem. Sci.*, **4**, 171

(1979)

- 31) 菅野 司, 塩田昌一: 代謝, **21**, 49 (1984)
- 32) Meijer, A.J. and Williamson, J.R.: *Biochem. Biophys. Acta*, **333**, 1 (1974)
- 33) Scrutton, M.C. and White, M.D.: *J. Biol.*

Chem., **246**, 5405 (1974)

- 34) Walajtys-Rode, E., Coll, K.E. and Williamson, J.R.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 11521 (1979)

(昭和59年6月13日受理)