

アルコール摂取時の代謝変動に 及ぼす内分泌の影響について

Effects of Hormonal Agents on Metabolic Changes
Induced by Acute Alcohol Ingestion in Rats.

小住 フミ子 ・ 鮫島 かな子

FUMIKO OZUMI and KANAKO SAMESHIMA

(原稿受理 昭和47年10月16日)

It is well known that the excessive ingestion of alcohol is associated with derangements in liver function and the development of liver disease. Nevertheless, the exact mechanisms whereby the intake of alcohol produces a fatty liver or liver diseases have remained to be solved.

The experiments reported here were undertaken to ascertain the reason why the acute ethanol administration to rats maintained on an adequate diet results in the significant changes in hepatic triglyceride, plasma free fatty acid, hepatic glycogen and blood glucose levels, and why such effects were modified by endocrine secretion.

The dose of ethanol administered to rats was 6.0g/kg of Body weight. All rats were sacrificed 10 hours after oral administration of ethanol. An increase of hepatic triglyceride level was found after the acute ethanol intoxication. Female rats showed a more significant increase of hepatic triglyceride. Furthermore, a single intoxicating dose of ethanol induced the depletion of liver glycogen stores and hypoglycemia both in male and female rats. In contrast to intact animals, rats treated with nor-adrenaline showed the more remarkable increase of plasma fatty acid than control animals.

It is suggested that ethanol intoxication may cause the mobilization of fat from the depots to the liver, and that adrenal hormones are involved in the mechanism of this mobilization.

酒は古今より洋の東西を問わず、嬉しいにつけ悲しみにつけ、多くの人々に好まれているが、反面過度のアルコール摂取はある種の栄養欠陥を来すと共に、肝の正常な機能を障害ししばしば脂肪肝、アルコール性肝炎、或いは肝硬変症などの発生をもたらすことも周知の事実である。アルコールと肝障害の問題については種々の面から検討が加えられている。しかし、アルコールによる肝障害、とくに脂肪肝発生の成因については種々の説が唱えられているが、

賛否両論が混在して、まだ完全な意見の一致は得られていない。

著者らはアルコール性脂肪肝発生の機構と関連して、大量のアルコール摂取時における糖質脂質の状態について検討を加え、さらに内分泌系の関与についても検索を試みたのでその結果を報告する。

I 実験材料ならびに実験方法

実験動物；実験には体重 150~200 g の Wister 系ラットをオリエンタル固型食で一定期間飼育したものをを用い、次の 8 群に分ち、肝中性脂肪、血中遊離脂肪酸、肝グリコーゲン、および血中グルコースを測定した。

1. 雄性対照群；雄性ラットを12時間絶食させた後、生理食塩水を体重100 g につき1.5 ml、胃ゾンデを用い胃内に注入した。

2. 雄性アルコール投与群；雄性ラットを12時間絶食させた後、50% (v/v) エタノールを体重100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデにて胃内に注入した。

3. 雌性対照群；雌性ラットを選び、12時間絶食させた後、生理食塩水を体重100 g あたり1.57 ml 胃ゾンデを用いて胃内に注入した。

4. 雌性アルコール投与群；雌性ラットに12時間絶食後、50% (v/v) エタノールを体重100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデを用い胃内に注入した。

5. ノルアドレナリン投与群；雄性ラットに 12時間絶食させた後、体重kgあたりノルアドレナリン0.1 mgを腹腔内に注入し、直ちに生理食塩水を体重100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデを用い胃内に注入した。

6. ノルアドレナリン+アルコール投与群；雄性ラットに 12時間絶食させた後、ノルアドレナリンを体重 1 kgあたり0.1 mg腹腔内に注入し、直ちに50% (v/v) エタノールを体重 100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデを用いて胃内に注入した。

7. 睪丸摘出群；エーテル吸入麻酔下に両側睪丸を摘出し、術後8日目に12時間絶食させた後、生理食塩水を体重100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデを用い胃内に注入した。

8. 睪丸摘出+アルコール投与群；エーテル吸入麻酔下に両側睪丸摘出を加え、術後8日目に12時間絶食させた後、50% (v/v) エタノールを体重100 g あたり1.5 ml 胃ゾンデを用い胃内に注入した。

各群は処置後10時間目に腹部大動脈より採血し、さらに脱血屠殺後、直ちに肝臓を摘出して実験に供した。

<測定方法>

肝中性脂肪の定量；肝内脂質をFolch¹⁾らの方法に従い抽出後、Van Handel & Zilversmit²⁾法に従い定量した。

血漿遊離脂肪酸の定量；Itaya and Ui³⁾の方法に従い定量した。

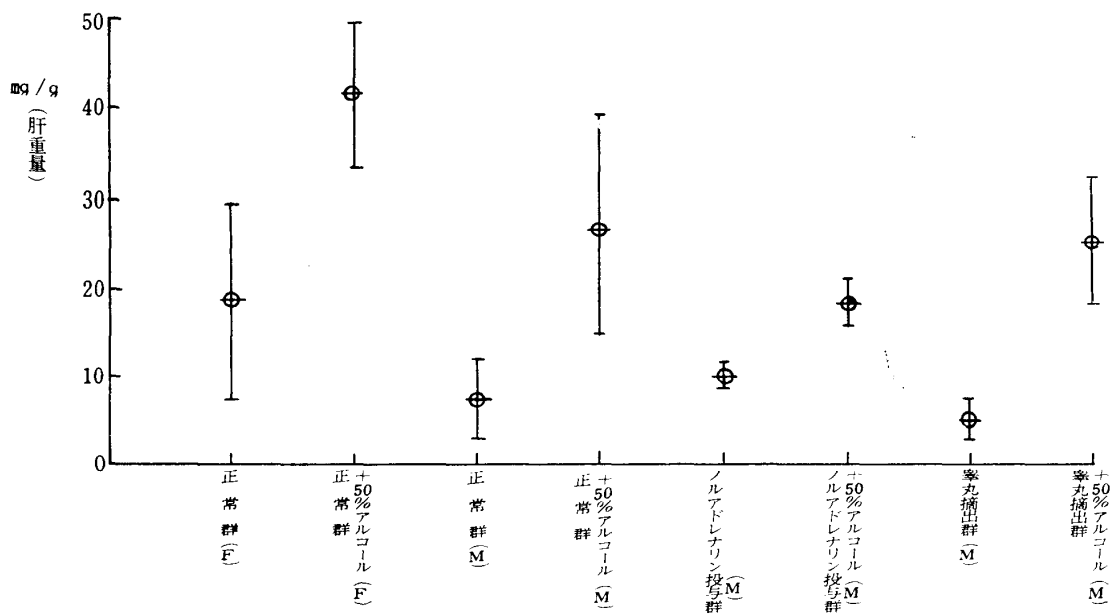
小住： 鮫島： アルコール摂取時の代謝変動に及ぼす内分泌の影響について

肝グリコーゲンの定量； Good, et al⁴⁾ Seiftr et al⁵⁾ および Van Handel⁶⁾ の方法を取り入れ、肝を30%苛性カリで熱処理後、エタノールでグリコーゲンを折出分離させ、Anthroneで発色定量を行った。

血中グルコースの定量； Huggett and Nixon⁷⁾のGlucose Oxidase 法を用いて測定した。第1表にネズミの各処理を示した。

[Table 1] Modification of Several Treatment Rats

Treatment	Sex of rats	No. of rats	Average weight of rats (g)	Average weight of liver (g)
Normal + 0.9% NaCl	F	5	174.2	5.45
Normal + 50% Ethanol	F	15	171.0	4.85
Normal + 0.9% NaCl	M	7	177.5	4.88
Normal + 50% Ethanol	M	5	178.1	5.37
Noradrenalin + 0.9% NaCl	M	5	176.3	5.28
Noradrenalin + 50% Ethanol	M	7	171.7	5.90
Testicle extirpation + 0.9% NaCl	M	5	157.3	6.53
Testicle extirpation + 50% Ethanol	M	8	173.0	5.10



[第1図] 肝中性脂肪の変動

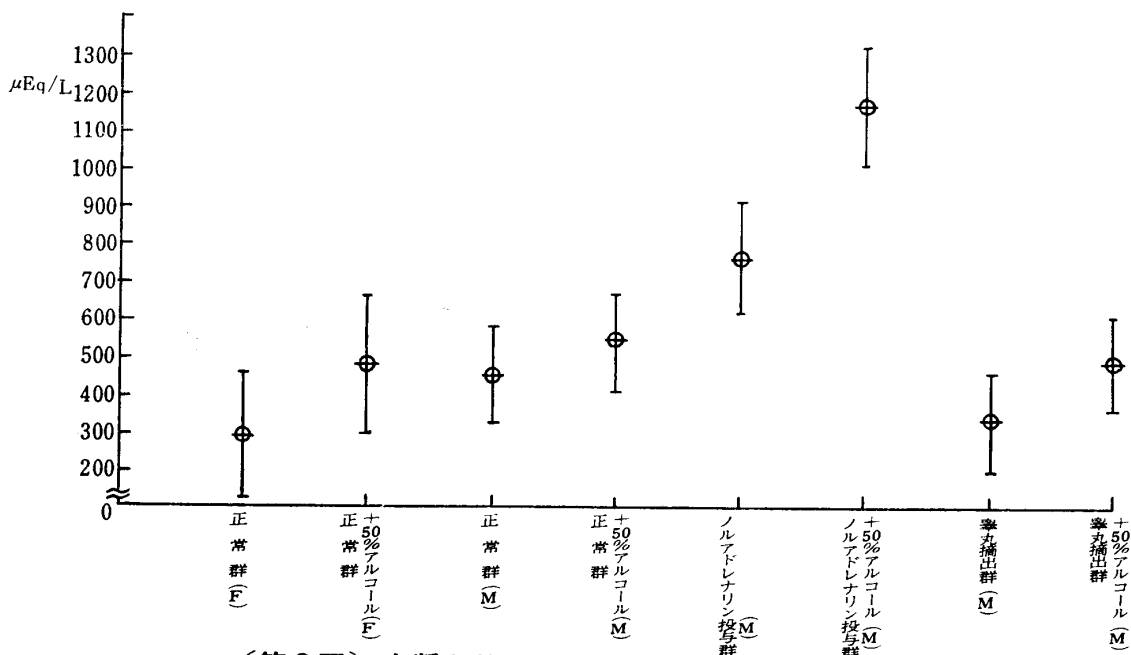
II 実験結果

大量のアルコールを負荷すると肝に著しい中性脂肪の蓄積が起き肝細胞内に脂肪沈着をみることは良く知られているところである。

ラットに体重 1 kgあたり 6 gのエタノールを経口的に投与した際にみられる中性脂肪の肝内蓄積に対する内分泌系及び性差の影響をみたのが (第II表) である。

[Table 2] Modification of Effect of Ethanol by Several Treatments

Treatment	Liver Triglyceride (mg/g of wet Liver weight)	Blood Free Fatty Acid (μ Eq/l)	Glycogen (mg/g of wet Liver weight)	Blood Glucose (mg/100ml blood)
Normal + 0.9% Nacl (F)	18.43 ± 11.00	292.8 ± 171.34	33.77 ± 3.31	114.9 ± 20.64
Normal + 50% Ethanol (F)	41.66 ± 8.48	478.1 ± 180.66	27.58 ± 6.50	87.9 ± 15.73
Normal + 0.9% Nacl (M)	7.62 ± 4.70	447.5 ± 124.10	31.54 ± 4.28	114.3 ± 17.52
Normal + 50% Ethanol (M)	27.04 ± 12.20	530.0 ± 131.23	22.61 ± 5.30	92.8 ± 13.21
Noradrenalin + 0.9% Nacl (M)	9.96 ± 1.01	774.2 ± 150.80	18.95 ± 2.67	111.4 ± 6.59
Noradrenalin + 50% Ethanol (M)	18.42 ± 2.77	1173.0 ± 150.05	11.22 ± 2.36	131.7 ± 11.62
Testicle extirpation + 0.9% Nacl (M)	4.49 ± 2.56	330.8 ± 125.04	31.50 ± 2.45	114.2 ± 14.62
Testicle extirpation + 50% Ethanol (M)	25.04 ± 7.50	491.9 ± 120.25	28.31 ± 15.03	90.9 ± 28.04



[第2図] 血漿遊離脂肪酸の変動

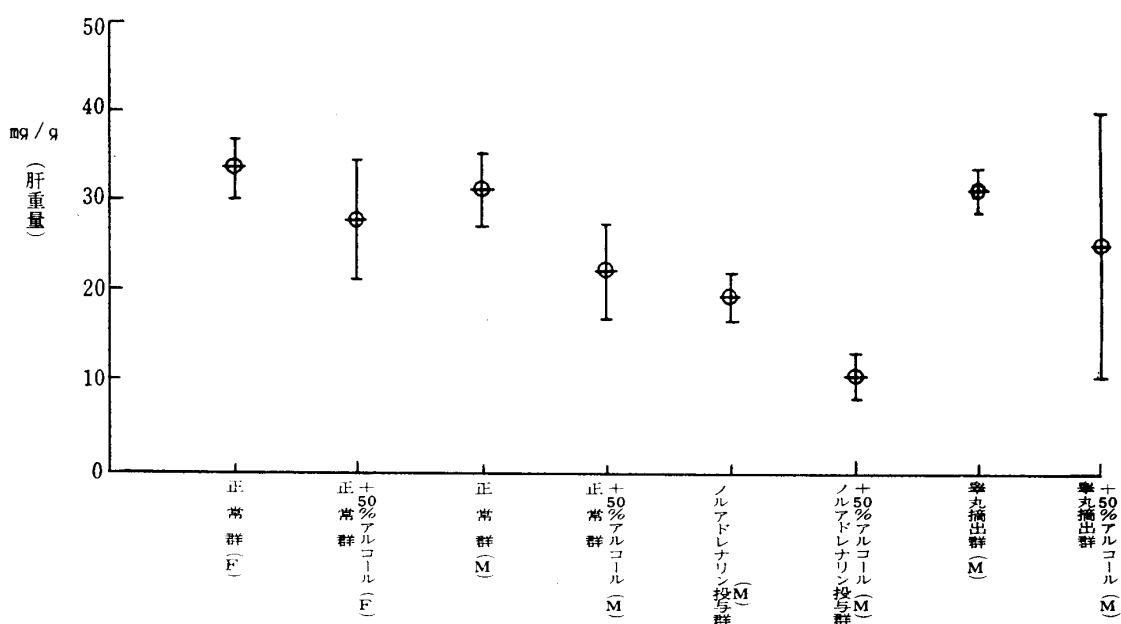
小住： 鮫島： アルコール摂取時の代謝変動に及ぼす内分泌の影響について

アルコールの大量1回投与を行った際の肝中性脂肪の蓄積状況を各実験群についてみると、対照群に比べいづれの実験群でも肝中性脂肪の増加をみている。このアルコール投与による肝内中性脂肪の蓄積増加は雌性ラットのアルコール投与群でもっとも高く、また雌雄ラットの性差をみると雌は対照群に比しアルコール投与したものは約2倍、雄は対照群に比しアルコール投与群は約4倍の肝中性脂肪の増加がみられた。またノルアドレナリンを投与した群についてみると、ノルアドレナリンのみを投与した群に比べアルコールを投与した群でも肝中性脂肪の増大がみられた。一方、睪丸摘出を行った群でも睪丸剔除+50%エタノール投与群の肝中性脂肪が著しく増大していた。

次に血漿遊離脂肪酸について調べた結果、(第2図)血中遊離脂肪酸は対照群に比べアルコール投与した各実験群のすべてに増加がみられた。その増加はノルアドレナリン+アルコール投与群で最も増加した。

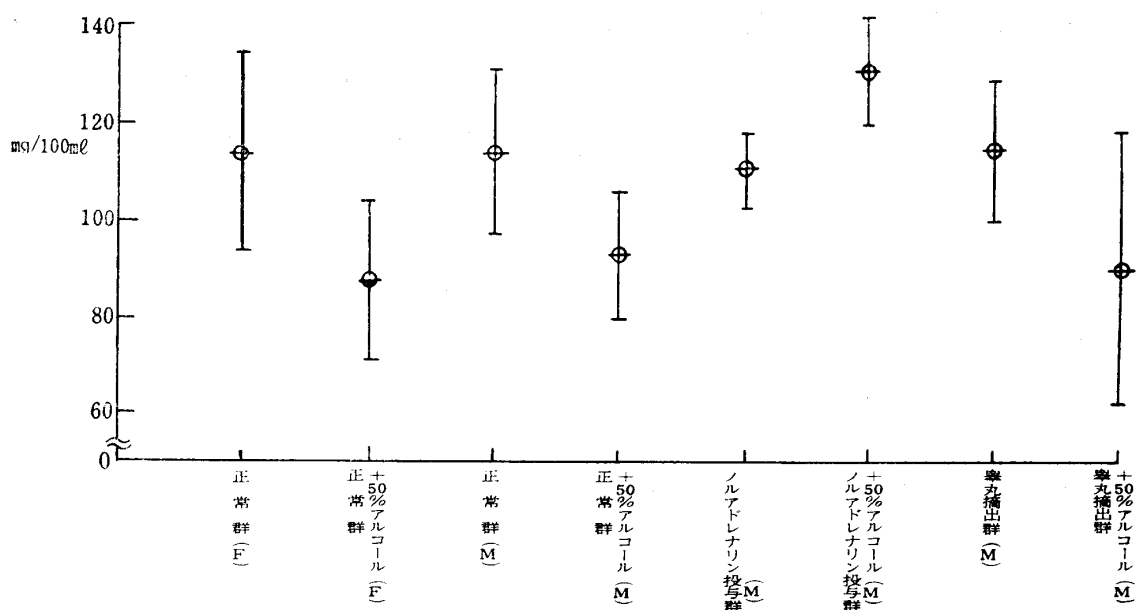
睪丸摘出を行ったものでは血漿遊離脂肪酸は雌性ラットの値に少し近づく傾向がみられた。過度のアルコール摂取時にみられる脂肪肝発生の機構と関連して、肝グリコーゲンの状態は重要な意味をもつと考えられるので、肝グリコーゲンの変動についても検討を加えてみた。

(第3図)一般にアルコール投与した群は対照群に比しグリコーゲン含量は低下する傾向にあった。一方、ノルアドレナリンを投与した群ではさらに肝グリコーゲン含量の減少が強くみられた。これらの事から、アルコールはノルアドレナリンと同様、肝グリコーゲン分解を促すものではないかと思われる。



〔第3図〕 肝グリコーゲンの変動

肝グリコーゲンの変動と対応してアルコール摂取による血中グリコース量の変動も調べてみた。(第4図)



〔第4図〕 血中グルコースの変動

対照群での雌雄ラット間に血中グルコース量の差異はあまりなく、また睪丸摘出を行った群でも対照群との間に特別な差異はみられなかった。しかし、ノルアドレナリン投与群を除いた以外のいずれの群でもアルコール投与によって血中グルコース量は減少を示した。このことはアルコールは血中グルコース量を減少させ、低血糖を誘発するのではないかという事を示唆するようである。

Ⅲ 考 察

アルコールの過度の飲用は肝障害、とくに脂肪肝発生を来すといわれているが^{8,9)}、その発生機構についてはまだ最終的な結論は得られていない。さらにアルコール性脂肪肝発生機序はアルコールの投与方法のちがいによって異なって来るようである。すなわち、大量に一回投与した場合¹⁰⁾と少量を長期に投与した場合¹¹⁾とでは肝内中性脂肪の脂肪酸構成にちがいがみられる。従って今回はアルコールの一回大量投与によってもたらされる肝への影響を脂肪肝発生と関連して検討を加え、表Ⅱにみるような結果が得られた。

アルコール摂取による脂肪肝発生の成因としてもっとも根本的なものに肝内NADHの過剰産生がある。この肝NADHの増加はアルコールがアルコール脱水素酵素によって酸化を受ける際に補酵素であるNADがNADHへの還元によるものである。摂取されるアルコールは肝においてアルコール脱水素酵素によりアセトアルデヒドに酸化され、アセトアルデヒドはさらにアセトアルデヒド脱水素酵素によりアセテートに酸化される。この間にNADはNADHに還元される。アセテートはさらにクエン酸回路にとり入れられCO₂とH₂Oになるが、エタノール酸化の過程でNADはNADHに還元されてNADH/NAD比が著しく増大するようになる¹²⁾。その結果ピルビン酸は乳酸へ、オキザロ酢酸はリンゴ酸に還元される。また解糖系の中

間代謝産物であるジハイドロオキシアセトン燐酸は α -グリセロ燐酸生成への方向に向い、還元代謝産物が増加して代謝系は還元状態に傾くようになる。この還元状態の結果クエン酸回路の回転は障害され、中性脂肪の産生が増加をみるようになる¹³⁾。エタノール投与した際の肝中性脂肪の変動を（第1図）に示しているが、エタノールを投与している群はいずれにおいても肝中性脂肪の増加をみている。

脂肪肝発生における成因の一つに末梢脂肪組織からの遊離脂肪酸の動員が考えられている¹⁴⁾。エタノールはアドレナリン、ノルアドレナリンの分泌を促すといわれている。またエタノールの酸化物であるアセトアルデヒドにもアドレナリン、ノルアドレナリンの分泌を促す作用があるとされている。

アルコール性脂肪肝発生に關与する血中遊離脂肪酸はエタノール投与によってアドレナリン、ノルアドレナリン分泌が促され、脂肪組織においてホルモン感受性リパーゼが活性化され、末梢脂肪組織から血中に動員された遊離脂肪酸と考えられ、そのためエタノールは血中遊離脂肪酸を増大し、脂肪肝発生を誘発すると云われている¹⁵⁾。

本実験でも、アルコール投与によって血中遊離脂肪酸は増加の傾向を示しており、ノルアドレナリン投与群ではその傾向が著しく現われた。

脂肪組織からの遊離脂肪酸の動員を抑制する条件、即ち脊椎切断術^{16,19)}、 β -受容体遮断^{17,18)}等は脂肪肝発生を抑制すると云われている。これらの事を考え合わせると、アルコール性脂肪肝発生はエタノール酸化によって $NADH/NAD$ 比が増大し、解糖系の中間代謝物がジオキシアセトン燐酸を経て α -グリセロ燐酸生成の方に向い、肝 α -グリセロ燐酸が、この増加した遊離脂肪酸を選択的に中性脂肪へエステル化するため肝に中性脂肪の蓄積が増大し、脂肪肝発生をみるものと考えられる。

脂肪肝発生への内分泌系の関与と関連して肝内中性脂肪蓄積を性差別について検討した結果雄性ラットより雌性ラットで増加がみられたが、去勢した雄ラットにおいてはあまりにも低い値を示した。これに関しては術後の期間が短かったことと併せ、今後詳細に検索実験する考えである。また雌性ラットの切巢剔術、アンドロゲンの関与についても考慮するつもりである。

Horning²⁰⁾ らによればアルコール投与の際の肝中性脂肪の増加は雄にくらべて雌において著しく大であるという。また雄において肝の中性脂肪量が雌より低いのは、肝からの中性脂肪の血漿中への遊出が雄の方が雌よりも大きいためであるという。他方脂肪酸の生合成に対しては生体の還元的状態が必要であり特に $NADPH$ が必要な事は承知の事であるが、 $NADH \rightarrow NAD$ とCoupleする $NADP \rightarrow NADPH$ の変化を触媒するTranshydrogenaseの補酵素が女性ホルモン、エストロゲンである事を考える時アルコール性脂肪肝の生成と女性ホルモンの関係、アルコールによる肝中性脂肪の増加と性差との関係をしらべる事は興味のあることと

思われる。

アルコール性脂肪肝発生における肝中性脂肪、遊離脂肪酸の態度と関連して肝グリコーゲン及び血中グルコースの変動について検討を加えた結果、アルコール投与によって肝グリコーゲンは減少し、肝グリコーゲンは分解の方向に傾いている事を知った。また血中グルコースもアルコール投与によって低血糖がみられ、Isselbach²¹⁾らによって大量のアルコール飲用は低血糖を誘発するという報告と一致するようである。このことは一方ではエタノール投与によるアドレナリンの分泌促進に基づく事が考えられるが、他方エタノール投与によって増加した遊離脂肪酸が解糖系を介して生成される α -グリセロリン酸と結合して中性脂肪の合成を促進し、 α -グリセロリン酸の消失が促され、故に肝グリコーゲンは分解の方向に向い、解糖が促進され、さらに血中グルコースの減少を来すものと考えられる。またこの事は、アルコール性脂肪肝発生において α -グリセロリン酸が律速段階であることを示唆するものと考えられる。Ylikahri²²⁾はラットに甲状腺ホルモンを投与すると、エタノールによって誘発される肝内中性脂肪の蓄積は抑えられ、また肝 α -グリセロリン酸の増加も抑制されると云っている。また大保¹⁸⁾も逆にあらかじめ甲状腺摘出術をラットに加え、エタノール投与したところ、肝グリコーゲン分解は抑えられ、脂肪肝発生も阻止されたと報告している。これらはアルコール性脂肪肝発生にグリコーゲン分解促進に伴う α -グリセロリン酸の生成が重要な役割を演じていることを示唆するものと考えられる。ノルアドレナリン投与群の血糖値が低かったのはアドレナリン投与10時間後に測定を行ったためノルアドレナリンによる高血糖の時期が既に経過した後であるためと考えられる。

IV 結 論

Wister系ラットを一定期間オリエンタル固型食で飼育後、エタノールを体重kgあたり6g1回経口的に投与して実験を行い、次の様な結果を得た。

(1), アルコール投与群の肝内中性脂肪量はいづれも対称群より高かった。

また雌雄の性差では雌性ラットの肝内中性脂肪含量が雄性ラットにくらべて高かった。

(2), 血漿遊離脂肪酸ではいづれもアルコール投与群の値が対称群より高く、中でもノルアドレナリン投与群が高かった。

(3), アルコール投与によって肝グリコーゲン含量は減少し、血中グルコースも低値を示した。

稿を終るに臨み、本研究に際し御校閲並びに御指導いただきました鹿児島大学医学部生化学教室大保不二夫教授に深甚な謝意を捧げると共に、終始御指導たまわりました同教室稲益良尚助教授に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Folch, J., Lees, M. and Slonane-stanly, G. H.: A Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226: 497, 1957.
- 2) Van Handel, E. and Zilversmit, D. B.: Micromethod for the direct determination of serum triglyceride, J. Lab. Clin. Med., 50: 152, 1967.

- 3) Itaya, K. and Ui, M.: Colorimetric determination of free fatty acids in biological fluids. *J. Lipid Res.*, 6 : 16, 1965
- 4) Good, C.A., Kramer, H. and Somogyi, M.: Determination of glycogen, *J. Biol. Chem.*, 100 : 485, 1933.
- 5) Seifter S., Dayton, S., Novic, B. and Muntwyler, E.: The estimation of glycogen with the anthrone reagent, *Arch. Biochem. Biophys.*, 25. 191 : 1950
- 6) Vand Handel, E.: Estimation of glycogen in small amount of tissue, *Anal. Biochem.*, 11 : 256, 1965.
- 7) Huggett, A. St. C. and Nixon, D. A.: Use of glucose oxidase and O-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Lancet*, 2 : 368, 1957.
- 8) Moon, V. H.: Experimental cirrhosis in relation to human cirrhosis. *Arch. Path.*, 18:3 81. 1934.
- 9) Hartroft, W. S.: Alcohol, Metabolism and liver disease. *Fed. Proc.* 26, 1432. 1967.
- 10) Elbo, E. E., Woales, W. R., and Di Luizo, N. R.: Alteration and metabolization of lipids in acute ethanol-treated rats, *Am. J. Physiol.*, 26 : 923, 1961.
- 11) Lieber, C. S., Spritz, N., and Decarli, L. M.: Role of dietary adipose and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of alcoholic fatty liver, *J. Clin. Invest.*, 45. 51, 1966.
- 12) Rawat, A. K.: Effects of ethanol infusion on the redox state and metabolite level in rat liver in vivo. *Eur. J. Biochem.*, 6 : 585, 1968.
- 13) Reboucas, G. and Isselbacher, K. J.: Studies on the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver, I. Synthesis and oxidation of fatty acid by liver. *J. Clin. Invest.*, 40 : 1355. 1961.
- 14) Horning, M. C., William, E. A., Maling, H. M. and Brodie, B. B.: Depot fat as source of increased liver triglycerides after ethanol. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 3 : 635. 640, 1960
- 15) Mallow, S. and Bloch, J. L.: Role of hypophysis and adrenals in fatty infiltration of liver resulting from acute ethanol intoxication. *Amer. J. Physiol.* 184 : 29, 1956.
- 16) Sapiro, R. H., Sheig, R. L., Dermmy, G. D., Mendelson, J. H. and Isselbacher, K. J.: Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and metabolism of lipid in man, *New Engl. J. Med.*, 272 : 610, 1965.
- 17) 大保不二夫: アルコールの病態生化学, 鹿大医報, 8 : 39. 1970
- 18) 大保不二夫: アルコール性脂肪肝の成因について, 臨床病理. 20, 3, 1972.
- 19) 稲益良尚, 大保不二夫: アルコール性脂肪肝に対する脊椎切断の影響, 肝臓. 13 : 315. 1972
- 20) Horning, L. Mani and K. L. Knox: The effect of ethanol on Triglyceride release From the liver. Roger P. Maikel. *Biochem. Factors in Alcoholism.* 145. 1967.
- 21) Isselbacher, K. J. and Greenberger, N. J.: Metabolic effects of alcohol on the liver, *New Engl. J. Med.* 270 : 402. 1964
- 22) Ylikahri, R. H.: Ethanol-induced changes in hepatic α -glycerophosphate and triglyceride concentration in normal and Thyroxin-treated Rats, *Metabolism.* 19 : 1036, 1970.