

Microdialysis 法を用いた脂肪組織における β アドレナリン性脂肪分解能の検討

Measurement of lipolysis by β -adrenergic effects
in subcutaneous adipose tissue using the microdialysis technique.

大崎 暢子* 前田 知幸**
押田 芳治*** 佐藤 祐造***

Nobuko OHSAKI * , Tomoyuki MAEDA **
Yoshiharu OSHIDA *** , Yuzo SATO ***

The purpose of the present study was to elucidate the possibility that the in vivo lipolysis in subcutaneous adipose tissue could be determined by using the microdialysis technique in Wistar rats. The plasma insulin concentrations before and immediately after the experiment were 9.7 ± 1.2 and $10.6 \pm 0.9 \mu\text{U/ml}$, respectively, and there was no significant difference. During the study, no significant change in blood glucose concentrations was observed. Stepwise increases in the subcutaneous adipose tissue dialysate glycerol concentrations were found when medium solution in the adipose tissue probe was supplemented by the administration of increasing concentration of isoproterenol ($0, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}$ mol/l).

These results suggest that the microdialysis technique provide a reliable estimate for the in vivo lipolysis in subcutaneous adipose tissue.

緒 言

これまで、脂肪組織における脂肪分解能に関する研究は、いわゆる in vitro での検討が主であった^{1,2)}。しかしながら、in vitro 下での検討は、神経支配や血流などの要因が除外されており、生体における脂肪分解能を必ずしも正確に反映しているとはいいがたい。すでに我々は、小動物の脳内神経伝達物質の検索に用いられる microdialysis 法³⁾を、ラットの骨格筋、脂肪組織に応用し、in vivo 下でのこれらの組織におけるケトン体、乳酸などの代謝産物の測定が可能であることを明らかにしている^{4,5,6)}。そこ

で、本研究では、microdialysis 法を皮下脂肪組織に適用し、脂肪分解能の評価が可能かどうかについて検討を加えたので報告する。

対象および方法

1. 脂肪分解能に及ぼす麻酔の影響の検討

Animal. 体重 180 ~ 200g の 15 時間絶食された Wistar 系雌性ラット 6 例を対象とした。ネンブタール麻酔下 (50mg/kg)、採血用に大腿静脈にカテーテルを留置した。

Dialysis of blood. 左側の頸静脈および大胸筋を露出し、大胸筋を通して頸静脈に、ガイドカ

* 名古屋大学大学院医学研究科健康増進科学

** 名古屋大学医学部

*** 名古屋大学総合保健体育科学センター

* First Division of Health Promotion Science, Graduate School of Medicine, Nagoya University.

** Nagoya University School of Medicine.

*** Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University.

ニューレおよびエイドカニューレとともに、microdialysis プローベを挿入した。このプローベを介して、 $3\mu\ell/\text{min}$ の速度で頸静脈にリンゲル液を注入し、20分毎に透析液を回収した。この透析液中のグリセロール濃度を測定した。

Dialysis of subcutaneous adipose tissue. 側腹部の皮膚を切開し、プローベを白色皮下脂肪組織に挿入した。microinfusion pump を用い、 $3\mu\ell/\text{min}$ の速度で皮下脂肪にリンゲル液を注入し、透析を行った。5時間に及ぶ後述の本実験における麻酔の影響を検討する目的で、5時間透析を行った。透析液を20分毎に採取し、グリセロール濃度を脂肪分解能の指標として測定した。

2. 頸静脈および皮下脂肪組織における microdialysis プローベのグリセロール回収率の検討

Animal. 体重180～200gの15時間絶食された Wistar 系雌性ラット6例を対象とした。

前述の方法に従い、皮下脂肪組織に microdialysis を実施した。

microdialysis プローベの回収率を検討する目的から、皮下脂肪組織に、既知の濃度のグリセロール (13.5、21.8、28.6、32.8mg/ℓ) を含むリンゲル液を注入し、透析を行った。採取された透析液中のグリセロール濃度と注入リンゲル液中のグリセロール濃度を比較し、回収率を算出した。

3. 皮下脂肪における β アドレナリン性脂肪分解能の検討

Animal. 体重190～215gの15時間絶食された Wistar 系雌性ラット11例を対象とした。

前述の方法に従い、頸静脈および皮下脂肪組織に microdialysis を実施した。皮下脂肪組織の透析には、0、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/l の5段階の濃度のイソプロテレノールを含むリンゲル液を用いた。各々のイソプロテレノール濃度において、 $3\mu\ell/\text{min}$ の速度で、1時間透析を行い、20分毎に透析液を採取した。得られた透析液中のグリセロール濃度を測定し、脂肪分解能の指標とした。

Plasma insulin, Blood glucose. 実験前および終了直後における血漿インスリン濃度、実験中

の血糖値を測定した。

なお、数値は、平均値±標準誤差で示した。統計学的検討には、paired t-test を用いた。

成 績

1. 脂肪分解能に及ぼす麻酔の影響

1) 血漿インスリン濃度および血糖値

実験前及び終了直後における血漿インスリン濃度 (前: 5.8 ± 0.7 、後: $8.4 \pm 1.0 \mu\text{U}/\text{ml}$)、および血糖値 ($51.3 \sim 54.7\text{mg}/\text{dl}$) には、有意な変動はみられなかった。

2) グリセロール濃度 (図1)

頸静脈および皮下脂肪組織ともに、microdialysis 実施中のグリセロール濃度は、各々 $0.07 \sim 0.14\text{mg}/\ell$ 、 $0.25 \sim 0.39\text{mg}/\ell$ の範囲にあり、有意な変動を示さなかった。

2. 頸静脈および皮下脂肪組織における microdialysis プローベ回収率の検討

リンゲル液中グリセロール濃度の上昇に伴い、皮下脂肪組織の透析液中グリセロール濃度が濃度依存的に上昇した (図2)。皮下脂肪組織における microdialysis プローベのグリセロール回収率は、 $89.7 \sim 90.7\%$ の範囲内であった (図3)。

3. 皮下脂肪における β アドレナリン性脂肪分解能の検討

1) 血漿インスリン濃度および血糖値

実験前および終了直後における血漿インスリン濃度は、各々 9.7 ± 1.2 、 $10.6 \pm 0.9 \mu\text{U}/\text{ml}$ であり、実験前後間に有意差はみられなかった。また、実験中の血糖値は $57.4 \sim 61.4\text{mg}/\text{dl}$ を示し、有意な変動はみられなかった。

2) グリセロール濃度 (図4)

頸静脈の microdialysis により得られた透析液中のグリセロール濃度は、実験中、有意な変動を示さなかった。

皮下脂肪組織の透析液中グリセロール濃度は、イソプロテレノール濃度の上昇に伴い、濃度依存的に増大した。

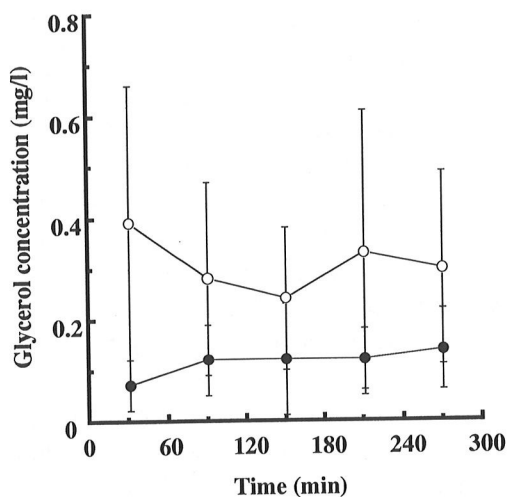


Fig. 1 Changes in basal glycerol concentration in jugular vein dialysate and subcutaneous adipose tissue dialysate during the study. There was no significant changes in both dialysates.

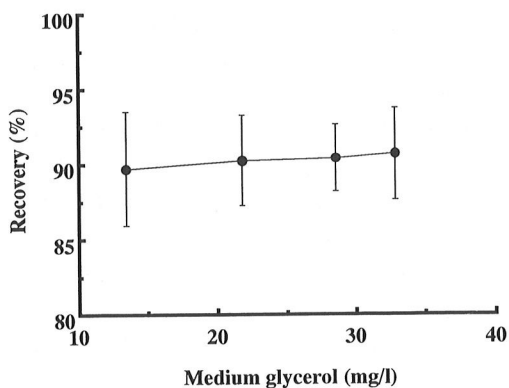


Fig. 3 Recovery of glycerol at each medium glycerol concentration in vivo. Recovery of glycerol was maintained constant.

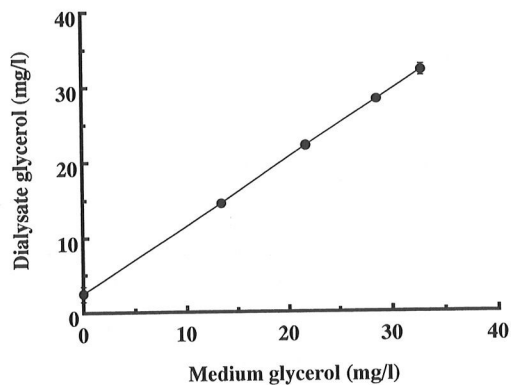


Fig. 2 Relationship between medium glycerol concentrations and dialysate glycerol concentrations in subcutaneous adipose tissue. Step-wise increases in the subcutaneous adipose tissue dialysate glycerol concentrations were found when medium glycerol concentrations in the adipose tissue probe were increased.

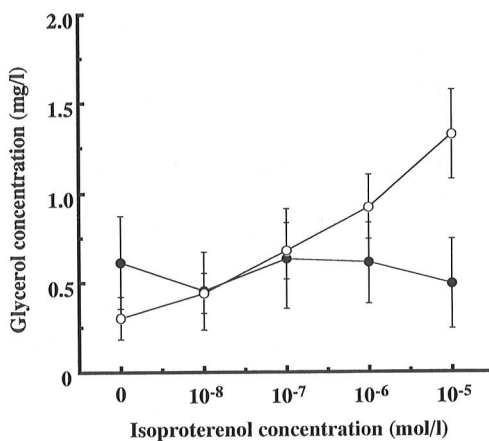


Fig. 4 Changes in glycerol concentration in blood and subcutaneous adipose tissue. A dose-dependent increase was found in subcutaneous adipose tissue when perfusate isoproterenol concentrations were increased.

考察および結論

これまで、脂肪組織の脂肪分解能に関しては、*in vitro* 下で検討が行われてきた。Rubeffe-Scrive ら²⁾は、大腿の皮下脂肪の分解が、イソプロテレノールの濃度の上昇に伴い、濃度依存的に亢進することを報告している。しかしながら、*in vitro* 下での研究では、脂肪組織に対する神経支配の影響や、カテコールアミンによる血流量の変動が見逃されており、生体内において、実際に、 β アドレナリン性刺激に対し、濃度依存的に脂肪分解が亢進するか否かは明らかではなかった。

われわれはすでに、インスリン作用に及ぼす運動トレーニング効果の評価について、euglycemic clamp 法と microdialysis 法を併用し、検討を行ってきた。その結果、microdialysis 法が、個体の骨格筋や脂肪組織における、insulin action の評価に非常に有用であることを明らかにした^{4,5,6)}。

そこで、本研究では、microdialysis 法を、皮下脂肪組織に適用することにより、神経支配や血流変動などの要因が反映されると思われる *in vivo* 下での、 β アドレナリン作用による皮下脂肪分解を検討した。

本研究では、本実験に先立ち、麻酔が脂肪分解に影響を与えないことを確認する意味で、5時間の microdialysis 実施中における脂肪分解の変動について検索した。また、*in vivo* 下における、microdialysis プローベのグリセロール回収率についても、先行研究⁷⁾の方法にしたがって検討を加えた。その結果、microdialysis 実施中における脂肪分解は安定しており、本研究では麻酔が脂肪分解に影響を及ぼしていないことが示された。また、*in vivo* 下におけるプローベのグリセロール回収率は、medium glycerol 濃度にかかわらず非常に高く、透析液中グリセロール濃度が medium glycerol 濃度を正確に反映することが示唆された。これらの結果から、本実験により得られたデータは、*in vivo* 下での皮下脂肪分解の状況を正確に反映しているものと考えられる。

本研究では、microdialysis 実施中における血糖値、実施前・終了直後の血漿インスリン濃度、および頸静脈中のグリセロール濃度に有意な変動は見られなかったことから、microdialysis により皮下脂肪組織に局所注入されたイソプロテレノールが全身的には影響を及ぼさないことが明らかとなった。さらに、皮下脂肪組織におけるグリセロール濃度がイソプロテレノール濃度の上昇に伴い、ほぼ直線的に上昇したことから、皮下脂肪組織における脂肪分解が、イソプロテレノールの濃度に依存することが示され、この結果は、*in vitro* での先行研究成績^{1,2)}と一致している。以上の事実は、microdialysis 法が、生体における皮下脂肪の局所脂肪分解能の検討に、非常に有効な手段であることを示唆している。

参考文献

- 1) Crampes, F., Beauville, M., Riviere, D., and Garrigues, M. (1986): Effect of physical training in humans on the response of isolated fat cells to epinephrine. *J. Appl. Physiol.* 61: 25-29.
- 2) Rubeffe-Scrive, M., Andersson, B., Olbe, L., and Bjorntorp, P. (1989): Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism.* 38: 453-458.
- 3) Tossman, U., and Ungerstedt, U. (1986): Microdialysis in the study of extracellular levels of amino acids in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* 128: 9-14.
- 4) Oshida, Y., Ohsawa, I., Sato, J., and Sato, Y. (1991): Studies on insulin action in skeletal muscle and adipose tissue by using the microdialysis technique. *Nagoya J. Med. Sci.* 14: 19-24.
- 5) Oshida, Y., Ohsawa, I., Sato, J., and Sato, Y. (1993): Effects of adrenomedullation on *in vivo* insulin-stimulated glucose utilization in relation to glycolysis in rat peripheral tissue. *Endocrine Journal.* 40: 99-106.
- 6) Yang, W-P., Oshida, Y., Wu, W., Sato, J., Ohsawa, I., and Sato, Y. (1995): Effects of daily voluntary running on *in vivo* insulin action in rat skeletal muscle and adipose tissue as determined by the microdialysis technique. *Int. J. Sports Med.* 16: 99-104.
- 7) Darimont, C., Vassaux, G., Gaillard, D., Ailhaud, G., and Negrel, R. (1994): *In situ* microdialysis of prostaglandins in adipose tissue: stimulation of prostacyclin release by angiotensin II. *Int. J. Obes.* 18: 783-788.

(1995年12月4日受付)