

## 脂質代謝に及ぼす下垂体前葉ホルモンの影響

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：青柳安誠教授）

松 本 浩 生

〔原稿受付：昭和34年8月6日〕

## EFFECT OF ANTERIOR PITUITARY HORMONES ON FAT METABOLISM

by

HIROMI MATSUMOTO

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School  
(Director : Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

Fat metabolism *in vivo* has been made clear recently by various biochemical investigations with use of tissue slices, homogenates and mitochondriae. However, the rôle played by the endocrine glands in the regulation of metabolic process of fat still remains obscure. In 1930, BURN and LING reported the ketonuric effect of crude pituitary extract. Furthermore, SHIPLEY and others indicated that the crude pituitary extract caused the liver to produce ketone bodies at an accelerated rate not only offering the liver an excess of lipid mobilized from the fat dépot but also by stimulating the liver cells directly. Later, LI and EVANS and WILHELMI and RUSSELL succeeded in isolating the purified crystalline growth hormone (GH) which became known to be effective for ketogenesis, mobilization of fat, lowering the respiratory quotient, growth promoting activity and inhibition of fatty acid synthesis. BONDY and WILHELMI, on the other hand, reported that hypophysectomy reduced the production of ketone bodies by liver slices. Although the results obtained by the authors mentioned above equally point to the correlation between the fat metabolism and GH, the biochemical aspects of its action has not been evidenced as yet.

The fat emulsion prepared in our laboratory can be administered intravenously without any injurious side effect. The metabolic process of this emulsion *in vivo* has been clarified biochemically as well as histochemically by our colleagues. It has consequently been known that a part of the glycerides infused intravenously can be oxidized to the stage of ketone bodies in the liver. Accordingly, by measuring the amount of ketone bodies produced by the liver slices, the effect of GH and ACTH on the catabolism of fat and the changes in fat metabolism following hypophysectomy were studied in the present paper.

Healthy male rats of Wistar strain were maintained on a diet of rat chow (produce of ORIENTAL Yeast Ind. Co. Ltd.) until the body weight reached about 150 g. Hypophysectomy was performed by suction through a transauricular route as advocated by KOYAMA. The hypophysectomized animals were observed over a period

of 2~4 weeks before they were used, those which showed a change of body weight of more than  $\pm 15\%$  being excluded from the experiment.

Fat Emulsion: 20% cod liver oil emulsion containing a small amount of stabilizer was given intravenously in a dose of 1.5 cc per 100 g of body weight.

Growth Hormone (GH): Antuitrin-Growth (produce of PARKE-DAVIS & Co.) was injected intraperitoneally in a dose of 0.1 to 0.5 mg per 100 g of body weight.

Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH): Cortrophine and Cortrophine-Z (DAIICHI Pharmaceutical Co.) was administered in the peritoneal cavity in a dose of 0.1 to 0.5 mg per 100 g body weight.

The oxygen consumption in tissue was measured with the WAREURG's direct method. Having sacrificed the experimental animal by bleeding without any anaesthesia, the liver was removed, and 100~120 mg (wet weight) of liver slices of approximately 0.3~0.5 mm thick suspended in 2.0 ml of saline phosphate buffer solution (pH, 7.4) in main compartment of standard WAREURG flasks of around 20 ml capacity. The side chamber contained 0.4 ml of 20% KOH solution. The flasks were incubated for one hour in a WAREURG water bath at the temperature of  $37.5 \pm 0.05^\circ\text{C}$  with a constant shaking at a rate of 90~100 strokes per minute and the oxygen uptake of the system was determined at 10 minutes intervals. The respiratory quotient,  $Q_{O_2}$ , was calculated on the basis of the dry weight of the tissue slices, which was measured after drying at the temperature of  $100^\circ\text{C}$  for one hour and represented in  $\mu\text{l}$ .

Ketone bodies were measured by the aniline citrate method (EDSON). When the oxygen consumption was already determined, the substratum was centrifugated and the supernatant was taken out as a sample solution for the determination of ketone bodies and incubated in the flasks which have the following constituents:

Main Chamber .....	{	50% Citrate ...0.5 ml
		3N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....0.2 ml
		Sample Sol. ...1.3 ml
Side Chamber.....		Aniline citrate...0.5 ml

The reagent, aniline citrate solution, is an admixture of 5.0 ml of purified aniline and 5.0 ml of 50% citrate solution. The rate of ketone body production ( $Q_{\text{acac}}$ ) thus determined was expressed as micromoles of acetoacetate produced per hour per 100 mg of dry weight. And following facts were obtained.

1) Administration of ACTH accelerates the endogenous ketone body production but does not put any influence at all on that production already increased by previous injection of the cod liver oil emulsion.

2) GH has not only a fat mobilizing effect but also an effect promoting the  $\beta$ -oxidation in liver. That is, GH promotes the  $\beta$ -oxidation (function of LYNEN's fatty acid cycle) at 8~20 hours, while the production of ketone bodies is controlled by the effect of GH on the function of TCA cycle.

3) An increase in ketone body production following hypophysectomy already appears few days after the operation.

4) Fasting remarkably promotes the ketone body production by the liver slices

of the hypophysectomized animal. Accordingly, this change is presumed to be the secondary effects of disturbance of carbohydrate metabolism.

5) The rate of increase of the ketone body production by the liver slices following the administration of fat emulsion is less in the hypophysectomized rats than in the normal ones. The reason for this is considered to be due to suppression of the fatty acid oxidation as the result of hypophysectomy.

6) Repeated administrations of ACTH or GH restore the ketone body production increased by hypophysectomy to the normal.

## I 緒 言

近時生体内脂質代謝過程は、切片、ホモゲネート、ミトコンドリア等を以てする生化学的研究により、その全貌が略々明らかにされるに至つた。併しその過程に關与するホルモンの役割は未だ断片的な知識が与えられているに過ぎない。

1930年、Burn & Ling<sup>12)</sup>が初めて粗前葉エキスのケトン尿生成作用(Ketonuric activity)を報告し、更に Shipley<sup>64)</sup>、その他によつて粗前葉エキスが貯蔵脂質を動員することによつてのみならず直接肝細胞を刺戟することによつて、肝切片によるケトン体生成能を増大させることを明らかにした。その後 Li & Evans<sup>39)</sup>並びに Wilhelmi & Russell<sup>73)</sup>等は純粋な結晶 Growth Hormone (GH)の分離に成功し、これを応用することによつて、多くの研究者はGHがケトン体生成<sup>6)9)26)43)67)</sup>、脂質動員<sup>25)38)41)50)66)69)</sup>、R.Q.低下<sup>24)</sup>、生長促進(蛋白節約による)<sup>7)24)40)</sup>、脂質合成抑制作用<sup>10)11)72)</sup>をもつことを明らかならしめた。一方 Bondy & Wilhelmi<sup>9)</sup>も下垂体剔出が、ラットの肝切片によるケトン体生成能を著しく低下させることを報告した。

以上の報告は凡て脂質代謝とGHとの關聯性を示しているが、その作用機序については、未だ充分な解答が与えられているとはいへない。

従来ホルモンの脂質酸化に及ぼす影響を調べるには、切片、ホモゲネート、ミトコンドリア等を用い特定の遊離脂肪酸(短鎖脂肪酸エステル)を基質として、in vitro でその酸化過程を追求しようとする方法が採られてきた<sup>1)13)22)26)32)</sup>。

近年われわれの研究室に於いて完成した脂質乳剤は、それを安全に生体の静脈内に投与することが可能となり<sup>28)</sup>、またその生体内酸化過程が組織化学的に或いは生化学的に究明され<sup>30)</sup>、注入脂質の一部が肝に於いてケトン体まで酸化され得ることが明らかとなつた<sup>28)63)</sup>。

本実験はこの乳剤の一定量を静脈内に負荷した際の、肝切片の生成するケトン体量を指標として、下垂体前葉ホルモンの投与、並びに下垂体剔出による脂質代謝の変動を追求したものである。

## II 実験材料並びに測定方法

1. 試獣：試獣は生後30日の雄性 Wistar 系ラットを固形飼料 (Oriental Yeast Co. Ltd.) で飼育し、150g 前後に達してから実験に供した。下垂体剔出は150g前後のラットに対し、小山<sup>36)</sup>の提唱する経耳的吸引法によつて専ら行つた。剔出動物は術後2週から4週間に亘つて観察したが、術前体重の±15%以上の変化を来したものは、本実験から除外した。

### 2. 使用薬剤：

(i) 脂質乳剤：少量の安定剤を含む20%肝油乳剤を脂質量にして体重100g当り0.3gの割合で頸静脈内に注入した。

(ii) Growth hormone (GH)：Antuitrin-Growth (Parke-Davis & Co.)を体重100g当り0.1~0.5mgの割合で試獣の腹腔内に注射した。

(iii) Adrenocorticotropic hormone (ACTH)：Cortrophine, Cortrophine-Z (第一製薬)を体重100g当り0.1~5.0mgの割合で腹腔内に注射した。

(iv) Thyroxine：l-Thyroxine-Na (B. D. H. Co.)を体重100g当り20~100μgの割合で皮下に注射した。

### 3. 測定方法

(i) 組織呼吸はワールブルグ直接法<sup>20)68)74)</sup>によつて測定した。試獣は無麻酔のもとに放血致死せしめ、直ちに肝臓を取出し、Free-handによつて0.3mm以内の組織切片を作製し、新鮮重量の100~120mgを用いて、2.0 mlの食塩燐酸緩衝液 (pH, 7.4)を入れた約20 mlの標準ワールブルグ容器の主室内に浮遊せしめ、側室には0.4ccの20% KOHを入れて発生する炭酸ガスを吸収せしめた。容器は37.5±0.05°Cの恒温槽中に於いて一時間 Incubateし、10分毎に組織呼吸を測定した。

呼吸係数 ( $Q_{O_2}$ ) は組織呼吸後の肝切片を一時間乾燥させた後測定した乾燥重量を基にして計算し, microliter ( $\mu$ ) で表現した。

(ii) ケトン体生成量は Aniline-citrate 法<sup>34)62)68)</sup> (Edson<sup>17)</sup>) によつて測定した。即ち組織呼吸測定後の基質を遠沈した上清を Sample solution として用い, 次の容器組織によつて Incubate した。

主室	}	50% Citrate.....0.5ml
		3N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....0.2ml
		Sample solution.....1.3ml
側室		Aniline-citrate.....0.5ml

試薬 Aniline-citrate は精製 Aniline 5ml と 50% Citrate 5ml を混合したものである。

ケトン体生成量 (Qacac) は乾燥重量 100mg について 1 時間について生成されるアセト醋酸の micromol ( $\mu$ M) で表わした。

(iii) 肝グリコーゲン量は組織切片作製時に於ける肝組織の一部を用い, Good, Kramer & Somogyi<sup>23)</sup> 氏変法によつて測定し, mg% で表わした。

### III 実験成績並びに考察

1. 正常ラットの肝切片によるケトン体生成に及ぼす下垂体前葉ホルモンの影響, 特に GH を中心として

#### A. 実験成績

(i) ホルモン投与量とケトン体生成量との関係

多くのホルモンが投与量及び投与時間によつて生体に全く異つた反応を起させることは, 一般によく知られている事実である。

この点を考慮して次のような実験をまず施行した。即ち 24 時間絶食させた正常ラットを次に示す処置を施した 2 群に別ち, その各々について肝切片のアセト醋酸生成量 (Qacac) を測定した。

(I) GH, ACTH の一定量を実験 12 時間前に腹腔内に投与した場合 (対照群)

(II) GH, ACTH を投与した後, 更に実験 4 時間前に肝油乳剤を頸静脈的に負荷した場合 (肝油負荷群) 測定成績は Table 1 に示した。

即ち無処置 (No. 1, 2) とホルモン投与 (No. 3~16) の比較に於いてみられるように, 対照群に於けるケトン体生成量 (内因性ケトン体生成量) は, GH 及び ACTH の 3mg の投与で何れも間に有意義の増加を示したが, 一方肝油負荷群に於いては GH と ACTH の態度は全く異り, GH 投与によつてケトン体生成量は著しく増加したが, ACTH 投与によつては有意義の増加

**Table 1** Effect of GH and ACTH on ketogenesis by surviving liver slices of fasted normal rats

(The values of Qacac are given in  $\mu$  moles of acetoacetate per 100mg of dry tissue per hour)

No. of rat	Dose of hormone mg per 100g	Qacac		Difference (II-I)
		Nothing add. (I)	Cod liver oil add. (II)	
1	none	§3.05		
2	none		5.52	2.47
3	GH 0.1mg	3.18		
4	GH 0.5	3.42		
5	GH 3.0	*4.53		
6	GH 3.0		*8.30	3.77
7	GH 5.0	*4.83		
8	GH 5.0		*8.21	3.38
9	GH 5.0	3.30		
10	ACTH 0.1	3.11		
11	ACTH 0.5	3.20		
12	ACTH 3.0	*4.71		
13	ACTH 3.0		5.30	0.59
14	ACTH 5.0	*4.84		
15	ACTH 5.0		4.90	0.06
16	ACTH 5.0	2.90		

§ mean value.

\*P (for difference from corresponding non-treated rats) < 0.01

In Nos. 1 and 2, 0.3cc of saline solution was injected intraperitoneally, and in Nos. 9 and 16, Antuitrin-Growth and Cortrophin-Z which was denatured by heating in boiling water bath for 30 minutes

を認め得なかつた。又対照群と肝油負荷群との比較に於いて (Difference) みられるように, 肝油負荷によるケトン体生成量の増加は, GH 投与によつて, 無処置のそれと較べると, 更に昂められたが, ACTH 投与によつては何等の変化も惹起せしめ得なかつた。

成る程, ACTH 及び GH 投与は肝切片によるケトン体生成量を増加させ, 明らかにそれらのホルモンが Fat mobilizing factor や Ketogenic factor を有していることが推定される。併し, 更に外来脂質を負荷すると, GH と ACTH の作用態度に前述のように著しい相違を生じたのである。この点については, GH の脂質処理能力がこの時期 (投与後 12 時間) に於いては著しく亢進しており, GH が脂質動員作用のみならず, 脂

酸化過程をも促進する作用を有していることを暗示しているのに対して、ACTHによるケトン体生成量の増加は、その脂質動員作用によつてのみ起つた現象と解し得る。

(ii) GHの脂酸化過程に及ぼす作用機序

一般にGlycerideの形で生体静脈内に注入された脂質球が、生体内で異化的代謝過程に導入され利用されていくためには、まずこれが予め肺の肺胞腔細胞、肝の星細胞、脾の網内系細胞等によつて摂取され、これらの細胞内でGlycerideから磷脂質に変じていることが必要である。而も肝油のように間接的酸化型式を営む比率の大なる脂酸を多量に含有するものが、経口的乃至非経口的に生体に摂取された場合には、その脂酸の大部分は肝実質細胞内に於いてLynenの脂酸サイクルに入り、 $\beta$ -酸化を受け、Acetyl-CoAを生じ、縮合酵素の媒介下におキザロ醋酸と縮合してクエン酸を生じてTCAサイクルに導入されるか、又は縮合してアセト醋酸を生成するか、いずれかの運命を辿ることは明らかである。

GHがこのような過程のどの点に関与しているかを知らぬことは極めて興味深い。

この点を解明するために次の実験を行つた。即ち24時間絶食させた正常ラットを次に示す処置を施した4群に別ち、その各々について肝切片の示す酸素消費量( $Q_{O_2}$ )及びアセト醋酸生成量(Qacac)を逐時的に測定した。

(I) 20%肝油乳剤(1.5cc/100g体重)を実験の4, 8, 12, 16, 24時間前に夫々単独に投与した場合

(II) 肝油乳剤とGH(3mg/100g体重、腹腔内)を実験の4, 8, 12, 16, 24時間前に夫々同時に投与した場合

(III) GHを実験の4, 8, 12, 16, 20, 24時間前に夫々単独に投与した場合

(IV) GHを実験の4, 8, 12, 16, 20, 24時間前に夫々投与し、更に肝油乳剤を実験の4時間前に負荷した場合。

測定成績はTable 2, Fig 1, 2に示した。

Fig 1, Table 2にみられるように、肝油単独注入群(I群)と肝油とGH同時併用群(II群)に於ける最も著しい相違は、酸素消費量とケトン体生成量のPeakが全く逆に現われていることである。即ちI群に於いてはケトン体生成量は、肝実質細胞内に現われる磷脂質の量の増加につれて8時間後Peakに達し、その後次第に減少するが、一方酸素消費量は生成されたケトン体がTCAサイクルに入つて完全分解される

**Table 2** Effect of GH injected in vivo on oxidation of infused cod liver oil by liver slices of fasted normal rats (Qacac values are given in  $\mu$  moles of acetoacetate per 100mg of dry weight per hour, and  $Q_{O_2}$ 's are given in  $\mu$  liters per mg of dry weight per hour)

Time after injection	$Q_{O_2}$		Qacac	
	Mean	Change (%)	Mean	Change (%)
Group (I)				
before	$\mu$ M 9.10	0	$\mu$ l 3.05	0
4hrs.	13.62	+50	5.50	+ 83
8	14.90	+65	6.39	+ 113
12	15.71	+72	5.77	+ 92
16	15.88	+74	4.58	+ 53
24	14.87	+63	4.07	+ 40
Group (II)				
before	9.10	0	3.05	0
4hrs.	13.28	+46	5.31	+ 77
8	15.70	+73	7.75	+ 156
12	14.85	+63	8.70	+ 190
16	13.90	+53	8.31	+ 177
24	13.31	+46	6.55	+ 118
Group (III)				
before	9.10	0	3.05	0
4hrs.	10.60	+18	3.10	+ 3
8	10.58	+17.9	3.43	+ 12
12	9.70	+ 6.7	4.53	+ 48
16	9.65	+ 5.1	4.76	+ 56
20	9.78	+ 7.5	4.00	+ 31
24	9.32	+ 2.8	4.15	+ 36
Group (IV)				
before	13.62	0	5.50	0
4hrs.	13.28	- 2.2	5.31	- 3
8	15.10	+10.9	6.28	+ 14
12	14.42	+ 6.1	8.30	+ 51
16	13.69	+ 0.8	8.94	+ 63
20	14.02	+ 3.0	8.10	+ 47
24	13.50	+ 1.0	7.32	+ 33

過程によつて消費される酸素を含むため、16時間後に至つて初めてPeakに達する。この結果は教室の西野<sup>62)</sup>、重永<sup>63)</sup>の研究により既に明らかにされている。

然るに、II群に於いては酸素消費量のPeakは遙か

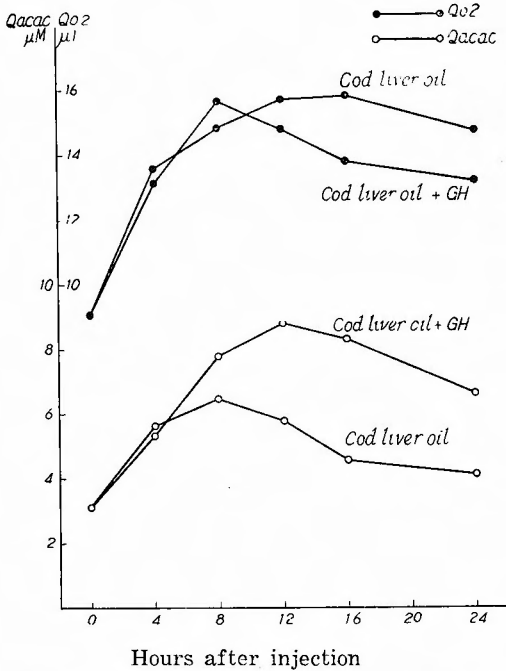


Fig. 1 Changes in  $Q_{O_2}$  and  $Q_{acac}$  values following administration of cod liver oil alone or simultaneously with GH

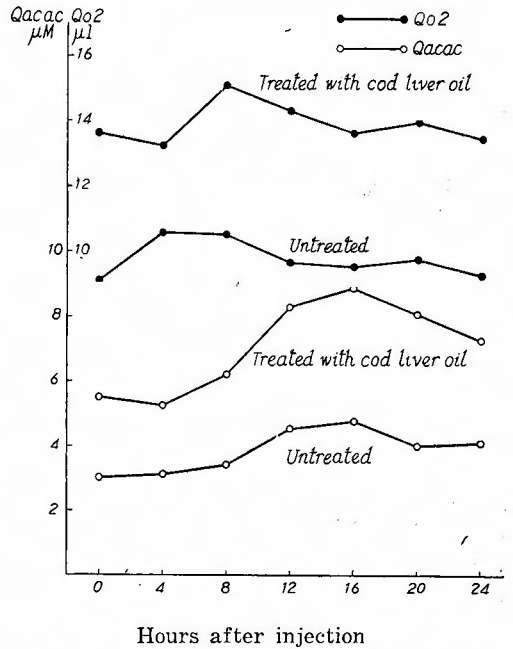


Fig. 2 Changes in  $Q_{O_2}$  and  $Q_{acac}$  values following administration of GH into rats untreated and those treated with cod liver oil 4 hours before sacrificing

に速か、既に8時間後に現われている。一方ケトン体生成量は12時間後 Peak に達し、次第に減少の傾向を示した。

以上の成績は明らかに GH が磷脂質以下の脂質酸化過程に影響を及ぼしていることを示している。何となれば、GH が磷脂質の生成機転のみに関与し、その過程を促進しているとすれば、酸素消費量の Peak とケトン体生成量の Peak が逆になるということはありません。I 群と同じ傾向を示さなければならないからである。GH が磷脂質の Turn over を促進しているかどうかは<sup>21)</sup>、上述の測定成績のみから推測することは出来ない。

又 II 群に於いて脂質注入8時間以後のケトン体生成量が、肝油単独注入群に比して著しく増加しているにも拘らず、酸素消費量が却つて減少していることは、GH が TCA サイクルの輪行を抑制することによって  $C_2$  Fragment の運命を調節しているものと考えることが出来る。

次いで肝油投与時間を一律に規定して GH との併用投与を行つた第 IV 群と、GH 単独投与を行つた第 III 群とを比較検討することによって、GH の脂質酸化過程に及ぼす影響を更に詳しく検討した。

Table 2, Fig 2 にみられるように酸素消費量についてみると、第 III 群に於いては GH 投与 4~8 時間後に最も増大するのに対し、第 IV 群に於いては 4~8 時間後一旦寧ろ低下し、8~12 時間後に至つて著しく増大する傾向を示した。而してその他の時期に於いては大體正常値を維持した。然るにケトン体生成量についてみると、III, IV 群共に同じような傾向を示し、GH 投与12時間後から増加し始め、16 時間後に至つて Peak に達し、24 時間後に達しても尚高い値を示した。

このような事実は、脂質の酸化過程を次のような 2 つの過程に別つて考えればそくその説明がつく。即ち脂質が Lynen の脂質サイクルに入り、Acetyl-CoA を生じるまでの過程と、Acetyl-CoA が TCA サイクルに入り水と炭酸ガスにまで分解される過程の 2 つに別けて考えるべきである。斯くすることによつて GH は、(1) GH 投与後 4 時間目頃迄は、Lynen の脂質サイクル並びに TCA サイクルの輪行を共に抑制している。(2) 併し、8 時間後に至ると Lynen の脂質サイクルのみならず、TCA サイクルの輪行をも共に著しく促進する。(3) 更に 12~20 時間後に至つても Lynen の脂質サイクルの輪行は促進されているが、その頃に至ると TCA サイクルの輪行は寧ろ抑制されているもの

と考えることが出来る。

換言すれば、GH投与後8～20時間に亘り脂酸の $\beta$ -酸化過程(脂酸サイクルの輸行)は終始促進されているが、その間のケトン体生成量はGHの有するTCAサイクルの輸行の促進あるいは抑制作用によつて規定されているようである。

## B. 考察

脂質動員作用に関しては、Szego & White<sup>66)</sup>, Weil & Ross<sup>69)</sup> 及び Greenbaum & Mclean<sup>25)</sup>等は、GH投与後6時間以内に肝に脂質が動員され、18時間以内にそれが消失することを明らかにし、Baker & Ingle<sup>7)</sup>, Li<sup>41)</sup> その他も<sup>2)3)4)42)50)55)</sup> ACTHが同じような脂質動員作用を有することを明らかにしている。

又前葉エキス或はGH投与が肝臓に於ける脂質異化過程に直接作用を及ぼしているという可能性は、in vitro の系に加えられた基質としての脂酸の有無に拘らず、肝切片の酸素消費量並びにケトン体産生量を増加させるという多くの研究によつて確かめられており<sup>13)26)43)52)</sup>、本実験に於いても亦それを実証することが出来たのである。ところで、このようなGHの有するKetogenic activityの原因は何処にあるのであろうか。Engel<sup>18)</sup>はGHの有するKetogenic activityの

Fig. 3

1. Hesokinase 反応の抑制
2. Hexosediphosphate 以下の解糖過程の抑制
3. アミノ酸の蛋白への転換促進 及びアミノ酸異化の抑制
4. 貯蔵脂質から肝への脂質動員
5. 脂肪酸酸化の促進
6. 糖から脂質への転換抑制或はAcetyl-CoA から脂質再合成の抑制
7. Krebs 回路を介する脂肪酸酸化の抑制

(Engel)

機構を説明するために、Fig. 3にみられるような模型図を示し、これ等の凡ては直接或は間接に肝に於けるケトン体生成を促すが、併しGHがこの中のいずれに関与するかを最終的に決定することは困難であると述べている。

併し他方、Bondy & Wilhelmi<sup>9)</sup>等の如く、精製されたGHはこのような作用を有しないとする研究者もある。又Campbell & Davidson<sup>13)</sup>は、in vitroに投与した前葉エキスは肝切片の内因性ケトン体生成能を

増大させたが、in vitroに於いては基質として用いたオクタネートの酸化過程を促進しないという結果を報告し、この結果は内因性結合脂酸と自己の実験に使用した短鎖遊離脂酸の酸化様式の相違によるものであろうと述べている。

私は生体内に肝油乳剤を負荷することによつて、ケトン体産生量及び酸素消費量の消長から、GHの脂酸酸化過程に及ぼす作用点が何処にあるかを間接的に証明しようと考へ、本実験を施行するに至つたが、本実験成績からも明らかのように、GHは脂酸酸化サイクルの輸行を抑制する時期と、それを促進する時期との2相性の作用を持つて居り、更にTCAサイクルの輸行を抑制乃至促進することによつてC<sub>2</sub>-Fragmentの運命をも亦調節していることを明らかならしめた。即ち、このような結果はGreenbaum & Mclean<sup>26)</sup>の飽食ラットの肝ホモゲネートによるオクタネート酸化過程についての実験から得られた成績と、GHが2相性作用を示す点でよく一致している。Greenbaumはこのような2相性反応はインシュリンによるものではないかということ指摘したが、事実GHがIslet tissueの増生を促進させるということが、1937年Richardson & Young<sup>53)</sup>によつて報告されており、又Milman & Russell<sup>46)</sup>は18～24時間絶食ラットに対するGH 3mgの一回投与により、インシュリンの分泌が亢進し、直ちにHypoglycemiaを起し、その効果は8時間維持されることを報告している。これ等の結果を本実験成績と対比してみると、GH投与後の初期変化(内因性呼吸増加、脂酸酸化過程の抑制)はインシュリン作用による糖質利用の促進が<sup>15)49)51)</sup>、酸素消費量の増加を来したものと推定される。

ところで12時間後に於けるGHの示す $\beta$ -酸化過程の亢進、及びTCAサイクルの輸行の抑制作用は、それを糖質代謝と結び付けて考えることは困難であるが、GHのもつ本来の目的が生長促進、即ち体蛋白の合成にあるとすれば、それに対するエネルギー源は、脂質代謝の促進によつて供給されているものと考えないと合理的であり、事実Russell<sup>46)</sup>はGHによる窒素貯溜は、脂質が主要エネルギー源として供給される時に最もよく証明されることを認めている。またTCAサイクルの抑制は無性ブドウ酸、オキサロ酢酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸等が蛋白合成に用いられ、その消耗によつてTCAサイクルの輸行が阻害されているのかも知れない。

以上GHの脂質代謝に及ぼす影響を多くの研究者によつてなされた報告と比較検討したが、併しこれ等の

成績がGHの1次的作用によつて招来されたものであるか、また糖質代謝、蛋白質代謝に及ぼす影響から必然的に惹起された2次的作用によるものであるかを、今直ちに結論づけることは困難である。

## 2. 下垂体別出試獣の肝切片のケトン体生成能に及ぼす諸因子について

### A. 実験成績

#### (i) ケトン体生成能に及ぼす下垂体別出の影響

先の実験に於いて下垂体前葉ホルモン、特にGHが、肝切片のケトン体生成能を昂めることを明らかならしめたが、下垂体別出によるその脱落が、ケトン体生成能にどのような影響を及ぼすかを、以下の実験によつて検討した。

即ち下垂体別出後4~10日(A群), 10~20日(B群), 20~30日(C群)のラットについて、夫々の24時間絶食後の肝切片による酸素消費量( $Q_{O_2}$ )及びアセト酢酸生成量(Qacac)を測定し、その成績はTable 3に示した。

Table 3にみられるように、下垂体別出ラットの肝切片のケトン体生成量は、全く予想に反して、対照群と較べ却つて著明な増大を示すが、他方酸素消費量は両群間に有意の差を認めない。またA群のケトン体生成量はC群のそれと対照群のそれとの中間の値を示すが、その増加は有意義である。

即ちケトン体生成量の増加は術後数日にして既に起り得るものと推測される。またこのような変化が下垂体に対する手術的侵襲によるものでないことは、Sham operated controlの値が、Intact controlのそれと殆んど変わらないことからよく推測される。

このように必発的に下垂体別出によつて惹起されるケトン体生成量の増加の原因については、次の3つの理由が当然考えられる。

即ち、

- (1) 脂質の異化的酸化過程の促進
- (2) Acetyl-CoAのアセト酢酸への転換の促進
- (3) TCAサイクルを経るAcetyl-CoAの利用の低下である。

この推定は以下の実験によつて検討された。

#### (ii) ケトン体生成能に及ぼす絶食の影響

このように下垂体別出によつて起つたケトン体生成量の増加が、糖質代謝障害にもとづく2次的な影響によるものかどうかを、試獣の絶食時間を変えることによつて検討した。

即ち飽食、8時間絶食、24時間絶食状態下にある下

**Table 3** Effect of hypophysectomy on ketogenesis by surviving liver slices of fasted rats

(Qacac values are given in micromoles of acetoacetate/100mg dry wt./hr., and  $Q_{O_2}$ 's are given in microliters/mg dry wt./hr.)

Group	No. of rats	$Q_{O_2}$	Qacac
* Intact controls	15	§9.10	3.05
Hypophysectomized			
A. 4~10 days after operation	8	8.98	**4.69
B. 10~20	8	9.40	**5.58
C. 20~30	8	9.31	**5.84
Sham operated controls	2	9.35	§§3.45

§ mean value

\*\* p (for difference from corresponding intact controls) < 0.01

§§ p > 0.3

\* As shown in Table 3', the rats in the intact control group weighed 140~230g and were 40~80 days old. The lower limit (140g) indicates the same weight as that of the hypophysectomized rat and the upper limit (230g) the same age of that rat

**Table 3'**

Group	Age (days)	Body weight (g)
A. Hypophysectomized (15~30 days after operation)	60~80	130~160
B. Sham operated controls	60~70	200~230
C. Intact controls	(1) 40~50	140~160
	(2) 60~80	200~230

垂体別出ラットの肝切片の酸素消費量( $Q_{O_2}$ )、アセト酢酸生成量(Qacac)、及び肝グリコーゲン量を測定し、その成績はTable 4に示した。

Table 4にみられるように、下垂体別出群のケトン体生成量は既に飽食時に於いても正常群のそれより高い値を示しており、又8時間絶食時に於いても肝グリコーゲン量の著しい低下と共にケトン体生成量もまた著しく増加している。更に24時間絶食時の肝グリコーゲン量は更に一層低下し、それに伴つてケトン体生成量も更に増加する傾向を示した。

即ち以上の成績のみからすれば、下垂体別出ラットの肝切片のケトン体生成量の増加の原因が、肝グリコーゲン量の消耗と密接な関連性を有しており、当然オ



**Table 4** Effect of fasting on ketogenesis by surviving liver slices of hypophysectomized rats

(Qacac values are given in micromoles of acetoacetate/100mg dry wt./hr., and  $Q_{O_2}$ 's are given in microliters/mg dry wt./hr.)

Group	No. of rats	Qacac	$Q_{O_2}$	Liver glycogen
		$\mu$ M	$\mu$ l	mg %
A. Not fasted				
Normal	5	§1.70	8.41	2040
Hypophysectomized	6	*3.12	7.02	1850
B. Fasted 8 hr.				
Normal	6	2.30	8.65	1620
Hypophysectomized	6	*5.20	8.98	80
C. Fasted 24 hr.				
Normal	15	3.05	9.10	70
Hypophysectomized	20	*5.84	9.32	15

§ mean value

\* p (for difference from corresponding normal) < 0.01

キザロ醋酸の欠乏によつて TCA サイクルの輸行が著しく不円滑になるためと考えられるのである。

(iii) ケトン体生成能に及ぼす脂質負荷の影響

次いで絶食及び24時間絶食状態に於ける下垂体別出ラットに対し、実験前4時間に肝油乳剤(1.5cc/100g)を負荷し、肝切片のアセト醋酸生成量(Qacac)を測

**Table 5** Effect of fat administration on ketogenesis by surviving liver slices of hypophysectomized rats

(Qacac values are given in micromoles of acetoacetate/100mg dry wt./hr.)

Group	Qacac		
	Nothing add. (I)	Cod liver oil add. (II)	Difference (II-I)
A. Not fasted			
Normal	§1.70	3.25	* +1.55
Hypophysectomized	3.12	3.81	** +0.69
B. Fasted 24 hr.			
Normal	3.05	5.70	* +2.65
Hypophysectomized	5.84	7.66	* +1.82

§ mean value

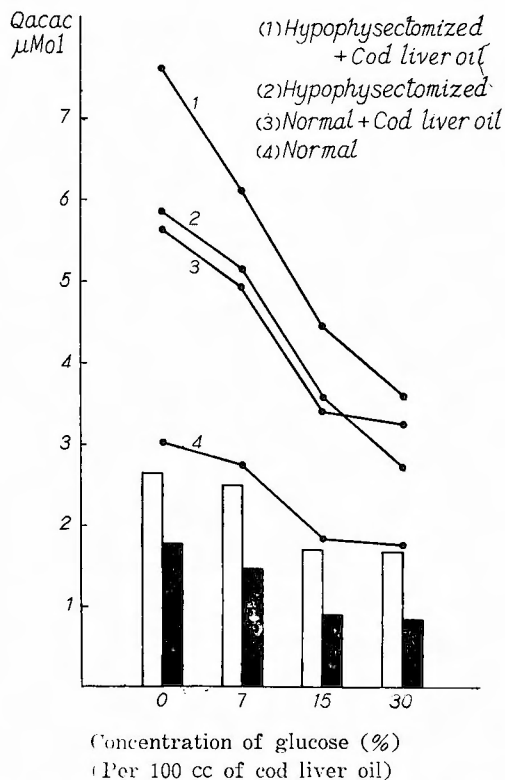
\* p < 0.01 \*\* p = 0.1

定することによつて脂質処理能力を判定した。その測定成績は Table 5 に示された。

Table 5 にみられるように、肝油負荷によるケトン体生成量の増加を正常及び下垂体別出群に於いて比較(Difference)すると、飽食時、24時間絶食時共に正常群の方がやや肝油負荷によるケトン体生成量の増大が著しい。

この結果は明らかに、下垂体別出群に於いては、注入脂質の利用が円滑に行われていないこと、即ち肝グリコーゲンの減量に伴う TCA サイクルの輸行が不円滑になっているのみならず、また脂質サイクルの輸行も円滑に行われ得ないことを示している。

即ち、24時間絶食させた正常群及び下垂体別出群に対して、実験4時間前に肝油乳剤(1.5cc/100g)及び5% Glucose を乳剤100ccに対して7%, 15%, 30%の



**Fig. 4** Changes in Qacac values at different concentration of glucose solution (Histogram shows difference in Qacac values between rats treated with cod liver oil and those not treated) □ Normal group, ■ Hypophysectomized group

割合で頸静脈より同時に投与し、肝切片のアセト酢酸生成量(Qacac)を測定した Fig. 4 の成績からも明らかに認められる。

即ち Fig. 4 に於いて、各群共投与するGlucose濃度の増加につれてケトン体生成量は著しく減少していくのがみられる。またヒストグラムは正常及び下垂体別出群の肝油負荷によるケトン体増加量のGlucose濃度の変化による変動を示すが、正常群、下垂体別出群共にGlucose濃度の増加につれてケトン体増加量は低下し、而も各濃度に於いて正常群の方がやや高い値をとるのがよく分るのである。

(iv) 下垂体別出試獣のケトン体生成能に及ぼす下垂体前葉ホルモン投与の影響

上述の成績から下垂体別出によつて肝切片のケトン体生成量が増加することは明らかであるが、果してそれが単一のホルモンの脱落によつて起つた特異的な反応であるかどうかを、GH, ACTH, Thyroxine を投与することによつて検討した。

即ち24時間絶食させた下垂体別出ラットに対し、実験前の一定時間にホルモンの一定量を1回投与した群(I群)と、術後10日目より3~8日間に亘りホルモンの一定量を連続投与した群(II群)について肝切片のアセト酢酸生成量(Qacac)を測定し、同時に肝油負荷を行つて脂質処理能力を判定した。

測定成績は一括して Table 6 に示された。

I群にみられるように、各種ホルモンの大量の1回投与によつてKetosisを低下させることは出来ず、反つてKetosisの昂まるものがみられた(No. 2, 5)。また脂質負荷によつても同様であり(No. 7, 9)、ホルモンの急性投与によつては一定の傾向を見出し得なかつた。

然るにII群にみられるようにACTH及びGHの連続投与によつてKetosisは著しく低下し、特にACTH投与によつては、注射開始後3日目に於いて既に正常値以下に達するのがみられ(No. 17, 18, 23, 24)、またGH投与によつては、注射開始後7日目に於いて、投与期間中体重増加のみとめられるものに於いてのみ、正常値に回復する傾向があり(No. 13, 15, 16, 21, 22, 1)、Thyroxine併用時に特にその回復が著しかつた(No. 16)。

## B. 考察

下垂体前葉エキスがKetogenic activityをもつことは、古くから研究され報告されてきたが、下垂体別出によつてそのKetogenic activityが消失するかと

**Table 6** Effect of anterior pituitary hormones injected in vivo on ketogenesis by surviving liver slices of fasted hypophysectomized rats

(Qacac values are given in micromoles of acetoacetate/100mg dry wt./hr.)

Group (I) Single administration

Exp. No.	*Dose of Hormones (mg per 100g)	§ cod liver oil add.	Qacac	
			mean	change (%)
	Intact control	—	3.05	
	Hypophysect. control	—	5.84	+ 91
1	GH 3.0mg	—	6.20	+107
2	GH 3.0	—	8.20	+169
3	ACTH 3.0	—	6.53	+113
4	ACTH 3.0	—	5.37	+ 76
5	Thyroxine 0.02	—	7.20	+130
6	Thyroxine 0.1	—	5.32	+ 74
	Intact control	+	5.70	
	Hypophysect. control	+	7.66	+ 34
7	GH 3.0	+	8.74	+ 53
8	GH 3.0	+	7.95	+ 40
9	ACTH 3.0	+	8.73	+ 53
10	ACTH 3.0	+	7.50	+ 31
11	Thyroxine 0.1	+	8.44	+ 49

\* Total dose were administered with a single injection 8~12 hours before sacrificing

§ Cod liver oil was administered 4 hours before sacrificing

うかという点については、僅かな報告をみるにすぎない。

Houssay<sup>31)</sup>及びFisher<sup>19)</sup>は下垂体別出によつて尿中ケトン体が減少することを見出し、Bondy & Wilhelm<sup>19)</sup>は正常ラットに対するGH投与は肝切片のケトン体生成能を増加させなかつたが、下垂体別出によつて著しく低下し、サイロキシン投与によつて正常にかえることを報告した。続いてTepperman & Teppermanは下垂体別出によつて肝切片のケトン体生成能は低下するが、術後15日以内に於いてはGH投与によつて回復することを報告した。

併しながら、本実験の結果はBondy及びTepperman等の成績とは全く一致せず、肝切片のケトン体生成量は下垂体別出によつて反つて増加するという結果になつた。

この原因の説明としては次の3つの理由が考えられる。

## Group (II), Repeated administration

Exp. No.	* Dose of hormones (mg per 100g)	Cod liver oil add.	Qacac		Note
			Mean change(%)		
	Intact control	—	3.05		
	Hypophysect. control	—	5.84	+91	
12	GH 0.3, for 3 days	—	5.52	+81	
13	GH 0.3, for 7 days	—	3.98	+31	weight gained 5g
14	GH 0.3, for 7 days	—	6.21	+104	
15	GH 0.5, for 8 days	—	3.75	+23	weight gained 8g
16	GH 0.5, + Thyroxine 0.02, for 6 days	—	3.08	+1	weight gained 7g
17	ACTH 0.5, for 3 days	—	2.68	-12	
18	ACTH 1.0, for 4 days	—	2.82	-7	
19	Thyroxine 0.02, for 6 days	—	5.82	+91	
	Intact control	+	5.70		
	Hypophysect. control	+	7.66	+34	
20	GH 0.3, for 7 days	+	7.82	+37	weight lost 10g
21	GH 0.5, for 7 days	+	6.50	+14	weight gained 7g
22	GH 0.5, for 8 days	+	6.08	+7	weight gained 7g
23	ACTH 0.5, for 4 days	+	5.05	-14	
24	ACTH 1.0, for 4 days	+	5.31	-7	
25	Thyroxine 0.02, for 8 days	+	7.25	+27	
26	GH 0.3 + ACTH 0.5, for 3 days	+	5.52	-3	weight gained 2g

\* Daily dose

即ち、

- (1) 脂質異化的酸化過程の促進
- (2) Acetyl-CoA のアセト酢酸への転換の促進
- (3) TCAサイクルを経る Acetyl-CoA の利用の低下。

而して、本実験成績からは、Lynen の脂酸サイクルの輸行は、下垂体別出によつて反つて抑制されるという結果が得られており、従つて(1)の理由は余り考えられず、寧ろ(2)(3)の理由が大きな原因になっているものと思われる。

即ち下垂体別出による肝切片のケトン体生成能の増加については、TCAサイクルを経る Acetyl-CoA の利用の低下を考えるのが一番妥当であろう。

Geyer<sup>(22)</sup>はラットの脳下垂体別除により、オクタネートの酸化が低下し、この低下は甲状腺エキスによつて回復することから、Thyrotropic hormone の欠乏によつて起つたものと考えた。又 Ringler & Leonard<sup>(54)</sup>はラットの下垂体別出によつて、1週間以内にLynen の脂酸サイクルに於ける重要な補酵素である Coenzyme A が半分に減少し、サイロキシシン、コチゾン、GH、パントテン酸等によつて多少回復する

ことを観察しているが、本実験に於いても下垂体別出は確かに脂酸サイクルの輸行を抑制するという結果を得ており、この点よく Geyer 及び Ringler 等の成績と一致した。

従つて下垂体別出ラットに於ける肝切片のケトン体生成能の増大は、どうしても TCA サイクルを経る Acetyl-CoA の利用の低下という問題に焦点がしぼられてくる。

而して下垂体別出試験の糖質レベルは飽食状態に於いても一般に正常試験のそれに較べ低く<sup>(57)(61)(65)</sup>、更に短時間の絶食によつて、肝グリコーゲン量が急速に低下することは Russell<sup>(59)</sup>等の報告によつても明らかである。

本実験に於いても絶食8時間後において肝グリコーゲン量は急速に低下し、それに伴ない肝切片のケトン体生成量は著しく増加したのである。これは TCA サイクルの輸行がオキサロ酢酸の量によつて支配されていることからみても当然の帰結である。

而して ACTH 及び GH の大量の1回投与は無効であつたが、連続投与によつて Ketosis が著明に減少し、正常値に回復する傾向をみたことは、これ等ホル

モンの Glycostatic effect<sup>27)33)59)60)</sup>との関係を裏付けているように思われる。

## 結 論

われわれの教室に於いて作製した肝油乳剤をラットの生体内に負荷し、肝切片の示す酸素消費量及び生成されるケトン体量を示標として、下垂体前葉ホルモンの投与、並びに下垂体剔出による脂質代謝の変動を追求し、次の結論に到達した。

(i) 絶食正常ラットに対する *in vivo* の ACTH 投与は、肝切片による内因性ケトン体生成量を増加させたが、肝油負荷によるケトン体生成量を変えなかつた。

2) 絶食正常ラットに対する *in vivo* の GH 投与は、肝切片による内因性ケトン体生成量を増加させ、更に肝油負荷によるケトン体生成量を著しく昂めた。これは GH が脂質異化過程促進作用をもつことを示すものである。

3) GH は脂酸酸化過程に対して、投与後 4 時間の抑制、8~20 時間に亘る促進の二相性の作用を持っており、更に TCA サイクルの輸行を促進乃至抑制することによつて、 $C_2$ -Fragment の運命を調節しているものと考えられる。

4) ラットの肝切片によるケトン体生成量は、下垂体剔出によつて昂められた。而もこの変化は術後数日にして既にもとめられた。

5) 下垂体剔出ラットの肝切片によるケトン体生成量は短期間の絶食によつて著しく昂まり、肝グリコーゲン量の急速な消耗とよく一致した。従つてこの変化は糖質代謝障害による 2 次的結果と推定された。

6) 下垂体剔出ラットの肝油負荷によるケトン体生成量の増加は、正常ラットのそれより稍々少なかつた。この変化は下垂体剔出が脂酸酸化過程に抑制作用を及ぼしたためと推定される。

7) 下垂体剔出ラットの肝切片によるケトン体生成量の増加は ACTH, GH の連続投与によつて正常に回復する傾向を示した。

ACTH は投与開始後 3 日目に於いて正常値以下に達し、GH は投与開始後 7 日目に於いて、投与期間中体重増加の認められるものに於いてのみ、正常に回復する傾向にあり、サイロキシン併用によりその効果は著しかった。

本研究に於て終始御教示をえた教室日笠頼則講師に対して深甚の謝意を表す。

## 文 献

- 1) Allen, A., Medes, G., and Weinhouse, S.: A study of the effects of growth hormone on fatty acid metabolism *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, **221**, 333, 1955.
- 2) Astwood, E. B., Raben, M. S., Rosenberg, I. N., and Westermeyer, V. W.: Metabolic effects of a pituitary extracts. *Science*, **118**, 567, 1953.
- 3) Astwood, E. B., Raben, M. S., Payne, R. W., and Grady, A. B.: Purification of corticotropin with oxycellulose. *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 2969, 1951.
- 4) Astwood, E. B.: Growth hormone and corticotropin, ed. by Pincus et al.; N. Y. Academic Press. "The Hormones", **3**, 289, 1955.
- 5) Baruch, H. and Chaikoff, I. L.: Lipogenesis and  $CO_2$  formation from acetate in the liver of the hypophysectomized rat. *Endocrinol.*, **56**, 609, 1955.
- 6) Bennett, L. L., Kreise, R. E., Li, C. H., and Evans, H. M.: Production of ketosis by the growth and adrenocorticotrophic hormones. *Amer. J. Physiol.*, **152**, 210, 1948.
- 7) Baker, B. L., Ingle, D. J., Li, C. H., and Evans, H. M.: The effect on liver structure of treatment with adrenocorticotropin under varied dietary conditions. *Amer. J. Anat.*, **82**, 75, 1948.
- 8) Beaton, G. H., and Curry, D. M.: A comparison of the effects of growth hormone and of insulin administration. *Endocrinol.*, **53**, 797, 1956.
- 9) Bondy, P. K., and Wilhelmi, A. E.: Effect of hormones upon the production of ketone bodies by rat liver slices. *J. Biol. Chem.*, **186**, 245, 1950.
- 10) Brady, R. O., Lukens, F. D. W., and Gurin, S.: Synthesis of radioactive fatty acids *in vitro* and its hormonal control. *J. Biol. Chem.*, **193**, 459, 1951.
- 11) Brady, R. O., Lukens, F. D. W., and Gurin, S.: Hormonal influence upon the *in vitro* synthesis of radioactive fatty acids. *Science*, **113**, 413, 1951.
- 12) Burn, J. H., and Ling, H. W.: Ketonuria in rats on a fat diet (a) after injections of pituitary (Anterior lobe) extract, (b) during pregnancy. *J. Physiol.*, **69**, 19 (Proc.), 1930.
- 13) Campbell, J., and Davidson, I. W. F.: Anterior pituitary extract and liver

- metabolism. *J. Biol. Chem.*, **189**, 35, 1951.
- 14) Chaikoff, I. L., Goldman, D. S., Brown, G. W. Jr., Dauben, W. G., and Gee, M.: Acetoacetate formation in liver, 1. From palmitic acid-C<sup>14</sup>, 5-C<sup>14</sup> and 11-C<sup>14</sup>. *J. Biol. Chem.*, **190**, 229, 1951.
  - 15) Chernick, S. S., and Chaikoff, I. L.: Insulin and hepatic utilization on glucose for lipogenesis. *J. Biol. Chem.*, **186**, 535, 1950.
  - 16) Drysdale, G. R., and Lardy, H. A.: Fatty acid oxidation by a soluble enzyme system from mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **202**, 119, 1953.
  - 17) Edson, N. L.: Ketogenesis-antiketogenesis, 1. The influence of ammonium chloride on ketone body formation of liver. *Biochem. J.*, **29**, 2082, 1935.
  - 18) Engel, F. L.: In hypophyseal growth hormone, nature and actions, ed. by Smith et al., McGraw-Hill Co., N. Y., 1955, p. 344.
  - 19) Fisher, R. E., and Pencharz, R. I.: Carbohydrate oxidation in hypophysectomized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **34**, 106, 1936.
  - 20) Fujita, A.: Manometric method and its application in the field of biology and medicine. Iwanami, Tokyo, 1949.
  - 21) Geschwind, I. I., Li, C. H., and Evans, H. M.: The effects of hypophysectomy, growth and adrenocorticotrophic hormones on the incorporation of P<sup>32</sup> into liver phospholipids. *Endocrinol.*, **47**, 162, 1950.
  - 22) Geyer, R. P., et al.: Utilization of radioactive lipides by normal and hypophysectomized rats. *Endocrinol.*, **47**, 108, 1950.
  - 23) Good, C. A., Kramer, H., and Somogyi, M.: The determination of glycogen. *J. Biol. Chem.*, **100**, 485, 1933.
  - 24) Greenbaum, A. L.: Changes in body composition and respiratory quotient of adult female rats treated purified growth hormone. *Biochem. J.*, **54**, 400, 1953.
  - 25) Greenbaum, A. L., and Mclean, P.: The mobilization of lipid by anterior pituitary growth hormone. *Biochem. J.*, **54**, 407, 1953.
  - 26) Greenbaum, A. L., and Mclean, P.: The influence of pituitary growth hormone on the catabolism of fat. *Biochem. J.*, **54**, 413, 1953.
  - 27) Grattan, J. F., Jensen, H., and Ingle, D. J.: The effect of the pituitary adreno-
  - corticotropic hormone and of corticosterone acetate on insulin hypoglycemia and liver glycogen in adrenalectomized mice. *Amer. J. Physiol.*, **134**, 8, 1941.
  - 28) Hashino, H.: Experimental studies on fat metabolism from the view-point of ketone body formation. *Arch. Jap. Chir.*, **24**, 488, 1955.
  - 29) Hikasa, Y., Asada, S., Zaitzu, A., Tsukada, A., and Nakata, K.: Studies on the intravenous administration of fat emulsion. *Arch. Jap. Chir.*, **21**, 1, 1952.
  - 30) Hikasa, Y.: Studies on the metabolism and its nutritional significance of fat emulsion. *Saishin Igaku*, **13**, 2278, 2586, 2954, 1958.
  - 31) Houssay, B. A.: Advancement of knowledge of the role of the hypophysis in carbohydrate metabolism during the last twenty five years. *Endocrinol.*, **30**, 884, 1942.
  - 32) Hunter, S. F.: Effect of ACTH administration on certain enzyme systems in rat liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **82**, 14, 1953.
  - 33) Illingworth, B. A., and Russell, J. A.: The effects of growth hormone on glycogen in tissues of the rat. *Endocrinol.*, **48**, 423, 1951.
  - 34) Jowett, M. and Quastel, J. H.: Studies in fat metabolism, I. The oxidation of butyric, crotonic, and hydroxybutyric acid in the presence of guinea-pig liver slices. *Biochem. J.*, **29**, 2143, 1935.
  - 35) Kennedy, E. P., and Lehninger, A. L.: The products of oxidation of fatty acids by isolated rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **185**, 1950.
  - 36) Koyama, Y.: *Dobutsu Jikken Syugi*. (Technique of animal experiment.), Kyodo Isho, Tokyo, 1955.
  - 37) Lehninger, A. L.: Fatty acid oxydation and the krebs tricarboxylic acid cycle. *J. Biol. Chem.*, **161**, 413, 1945.
  - 38) Levin, L., and Farber, R. K.: Hormonal factors which regulate the mobilization of depot fat to the liver. *Rec. Progr. Horm. Res.*, **7**, 399, 1952.
  - 39) Li, C. H., and Evans, H. M.: Pituitary growth hormone. *Science*, **99**, 183, 1944.
  - 40) Li, C. H., and Evans, H. M.: Biochemistry of pituitary growth hormone. *Rec. Progr. Horm. Res.*, **3**, 3, 1948.
  - 41) Li, C. H., Simpson, M. E., and Evans, H.

- M.: The influence of growth and adrenocorticotrophic hormones on the fat content of the liver. *Arch. Biochem.*, **23**, 51, 1949.
- 42) Li, C. H., Ingle, D. J., Evans, H. M., Perstruda, M. C., and Nazamis, J. E.: Effect of adrenocorticotrophic hormone upon liver fat and urinary phosphorus in normal forced fed rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **70**, 753, 1949.
- 43) Lotspeich, W. D., and Petersen, V. P.: Effect of anterior pituitary growth hormone on synthesis of acetoacetate by surviving slices of rat liver. *Amer. J. Physiol.*, **176**, 232, 1954.
- 44) Lynen, F.: Functional group of coenzyme A and its metabolic relations, especially in the fatty acid cycle. *Fed. Proc.*, **12**, 683, 1953.
- 45) Milman, A. E., and Russell, J. A.: Some effect of purified pituitary growth hormone on carbohydrate metabolism in the rat. *Endocrinol.*, **47**, 114, 1950.
- 46) Mirsky, I. A.: The source of blood acetone resulting from the administration of the ketogenic principle of the anterior hypophysis. *Amer. J. Physiol.*, **115**, 424, 1936.
- 47) Nakao, T., and Nakamura, E.: Physiology and pharmacology of pituitary hormone. Igaku Shoin, Tokyo, 1957.
- 48) Nishino, T.: Laboratory studies on the intravenous administration of the fat emulsion in the light of tissue metabolism. *Arch. Jap. Chir.*, **23**, 607, 1954.
- 49) Park, C. R., Brown D. H., Cornblith, M., Daughaday, W. H., and Krahl, M. E.: Effect of growth hormone on glucose uptake by isolated rat diaphragm. *J. Biol. Chem.*, **197**, 151, 1952.
- 50) Payne, R. W.: Studies on the fat mobilizing factor of the anterior pituitary gland. *Endocrinol.*, **45**, 305, 1949.
- 51) Perry, W. F., and Bowen, H. G.: The effect of growth hormone on lipogenesis in intact and adrenalectomized rats. *Endocrinol.*, **56**, 579, 1955.
- 52) Pittoni, A. and Rossi, R. C.: La production d'acide acétacétique dans le tissu hépatique et le Q. R. sous l'action des extraits préhypophysaires. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, (Paris), **33**, 1025, 1951.
- 53) Richardson, K. C. and Young, F. G.: Pancreatropic action of anterior pituitary extracts. *J. Physiol.*, **91**, 352, 1937.
- 54) Ringler, I., and Leonard, S. L.: Effect of hormones on the coenzyme A concentration in rat liver. *Endocrinol.*, **55**, 363, 1954.
- 55) Rosenberg, I. N.: Adipokinetic activity of oxycelpurified corticotropin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **82**, 701, 1953.
- 56) Russell, J. A., and Bennett, L. L.: Carbohydrate storage and maintenance in the hypophysectomized rat. *Amer. J. Physiol.*, **118**, 196, 1937.
- 57) Russell, J. A.: The relation of the anterior pituitary to carbohydrate metabolism. *Physiol. Rev.*, **18**, 1, 1938.
- 58) Russell, J. A.: Hypophyseal growth hormone, nature and actions, ed. by Smith et al., McGraw-Hill Co., N. Y., 1955, p. 213.
- 59) Russell, J. A.: The relationship of the anterior pituitary and the adrenal cortex in the metabolism of carbohydrate. *Amer. J. Physiol.*, **123**, 552, 1940.
- 60) Russell, J. A., and Wilhelmi, A. E.: The glycostatic action of purified growth hormone. *Endocrinol.*, **47**, 26, 1950.
- 61) Samuels, L. T., Reinecke, R. M., and Howard, A. B.: Liver fats and glycogen of hypophysectomized rats on high carbohydrate and high fat diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **49**, 456, 1942.
- 62) Sekine, T., et al.: Warburg's apparatus, II. Nankodo, Tokyo, 1955.
- 63) Shigenaga, M.: Experimental studies on fat metabolism with determination of respiratory quotient and ketone body production in tissues. *Arch. Jap. Chir.*, **27**, 91, 1958.
- 64) Shipley, R. A.: The metabolism of acetone bodies and glucose in vitro and the effect of anterior pituitary extract. *Amer. J. Physiol.*, **114**, 662, 1944.
- 65) Soskin, S., and Levine, R.: Carbohydrate metabolism. University of Chicago Press, 1952.
- 66) Szego, C. M., and White, A.: The influence of growth hormone on fasting metabolism. *Endocrinol.*, **44**, 150, 1949.
- 67) Tepperman, J., and Tepperman, H. M.: Effects of cortisone and purified pituitary growth hormone on ketogenesis by surviving liver slices. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **54**, 707, 1951.
- 68) Umbreit, W. W., et al.: Manometric

- techniques and tissue metabolism. Burgess. Co., Mineapolis, 1949.
- 69) Weil, R., and Ross, S.: Growth hormone and fat metabolism. *Endocrinol.*, **45**, 207, 1949.
- 70) Weinhouse, S., Medes, C., and Floyd, N. F.: Fatty acid metabolism, the mechanism of ketone body synthesis from fatty acids, with isotopic carbon as tracer. *J. Biol. Chem.*, **155**, 143, 1944.
- 71) Weinhouse, S., Millington, R. H., Volk, M. E.: Oxidation of isotopic palmitic acid in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **185**, 191, 1950.
- 72) Welt, I. D., and Wilhelmi, A. E.: Effect of adrenalectomy and of adrenocorticotropic and growth hormones on synthesis of fatty acids. *Yale J. Biol. Med.*, **23**, 99, 1950.
- 73) Wilhelmi, A. E., Fishman, J. B., and Russell, J. A.: A new preparation of crystalline anterior pituitary growth hormone. *J. Biol. Chem.*, **176**, 735, 1948.
- 74) Yoshikawa, H., et al.: Warburg's apparatus, I. Nankodo, Tokyo, 1954.