

無脂肪高蔗糖食投与ラットの、絶食時
における代謝について*

安 江 俊 二

(福島県立会津短期大学 家政科)

*この研究は、昭和51年度文部省科学研究費補助金、奨励研究Aによって援助を受けた。

I 緒 言

脂肪肝は、肥満や糖尿病の合併症¹⁾として、またアルコール過剰摂取²⁾や脂肪肝惹起物質³⁾により発生する。

ラットを絶食して、無脂肪高炭水化物食を再投与すると、肝の脂肪酸合成が急速に高まり^{4,5,6,7)}、脂肪肝ラットとなる^{8,9)}。

著者は、脂肪肝ラットの代謝パターンを調べる目的で、無脂肪高蔗糖食を、絶食と投与をくり返してラットに与え、脂肪肝ラットとした^{10,11)}。

この脂肪肝ラットを絶食したところ、絶食時の代謝において、肝のグリコーゲン分解が抑制され、ケトン体生成が亢進されていることが分かったので報告する。

II 実験材料および方法

1. 動物

ウィスター系雄性ラット(体重200~250g)を2日間、絶食した後、無脂肪高蔗糖(58%)食(日本クレア株式会社)を、3日間、自由摂取により、再投与した。この操作を3回くり返して、脂肪肝ラットとした。

この脂肪肝ラットに対して、12時間、24時間および48時間の絶食を行った。このラット¹²⁾を各絶食時間に、エーテル麻酔して、*in situ*で freeze-clamped 法により肝を採取した。血液は、断頭により、ヘパリン処理した試験管に採取した。その後の肝および血液の処理は、文献¹²⁾に従って行った。

対照標準ラットには、無脂肪高蔗糖食のかわりに、標準食(CE-2;日本クレア株式会社)を、絶食と再投与を、同じ周期でくり返して与えた。その後、同様に絶食し、同じ処理を行って、肝および血液を採取した。

ラットは、1グループを5匹ずつとした。

2. 脂肪および中間代謝産物の定量法

肝中のグリコーゲン(GLY)¹³⁾、グルコース-1-リン酸(G-1-P)¹⁴⁾、グルコース-6-リン酸(G-6-P)¹⁴⁾、フラクトース-6-リン酸(F-6-P)¹⁴⁾、フラクトース-1,6-ジリン酸(FDP)¹⁴⁾、ジヒドロキシアセトンリン酸(DHA)¹⁴⁾、グリセルアルデヒド-3-リン酸(G-3-P)¹⁴⁾、3-ホスフォグリセリン酸(3-PG)¹⁴⁾、2-ホスフォグリセリン酸(2-PG)¹⁴⁾、ホスフォエノールピルビン酸(PEP)¹⁴⁾、リンゴ酸(MAL)¹⁴⁾、クエン酸(CIT)¹⁴⁾、ピルビン酸(PYR)¹⁴⁾、乳酸(LAC)¹⁴⁾、遊離コエンチームA(CoASH)¹⁴⁾、ケトン体、長鎖脂肪酸acyl-CoA¹⁵⁾、血中遊離脂肪酸(NEFA)¹⁶⁾、血中の中性脂肪¹⁴⁾、血糖¹⁴⁾、肝中の総脂

質、血中の総コレステロール¹⁸⁾、等々の含量は、引用した文献に従って、測定した。

3. 酵素および試薬

中間代謝産物測定用の酵素および試薬は、ベーリンガー山之内株式会社より入手した。

4. 実験結果の検定

実験結果は、Student's t-test によって検定した。

III 実験結果および考察

1. 肝中のグリコーゲン含量

ラットに、無脂肪高蔗糖食を、2日間絶食、3日間投与を何回か、くり返して与えた

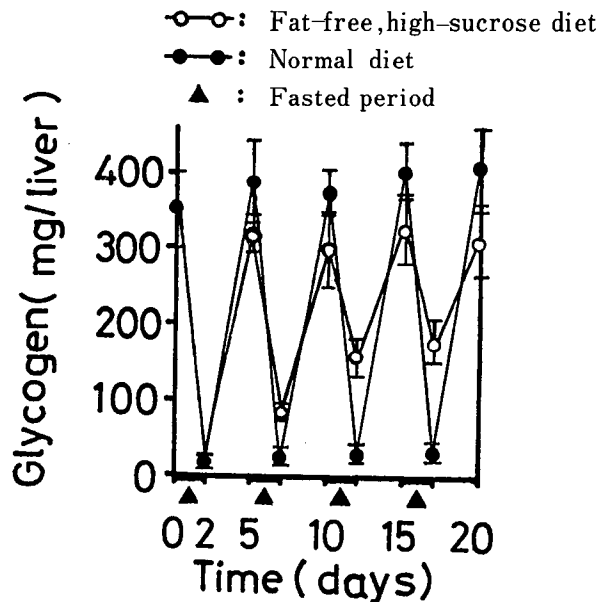


図1 肝中のグリコーゲン含量 (mg/肝)

標準食で飼育後、2日間絶食、3日間投与を行なった。飼料は、標準食として、CE-2 (日本クレア株式会社)を、無脂肪高蔗糖食としては、実験方法に記載した飼料 (日本クレア株式会社)を使用した。値は、5匹ラットの平均値±標準偏差 (S.D.)である。

ころ、図1に示したように、絶食中は、肝グリコーゲン含量が、対照ラットに比較して、高くなってゆくことが、みつかった。投与時には、有意な差がみられなかった。

次に、前述の実験方法に従って、無脂肪高蔗糖食を、絶食と再投与を3回くり返して、ラットに与え、脂肪肝ラットとした。このラットを、12時間、24時間および48時間絶食して、肝中のグリコーゲン含量の時間変化を検索してみた。結果は図2に示した。図2に示したように、対照ラットの肝グリコーゲン含量は、絶食開始後、急速に減少し、12時間絶食以後、最少含量に近づいていった。

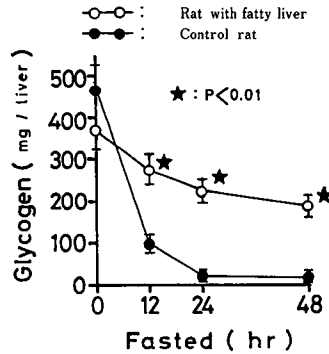


図2 肝中のグリコーゲン含量 (mg/肝)

2日間絶食後、ラットを二群に分けて一群には標準食を、別の一群には無脂肪高蔗糖食を、各々、3日間、投与した。さらに、2日間絶食、3日間投与を2回くり返した後、12時間、24時間および48時間の絶食を行った。検定は、各時間の対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。

無脂肪高蔗糖食投与による脂肪肝ラット（以下、脂肪肝ラットと略す。）の肝グリコーゲン含量は、絶食後、ゆるやかな減少しかみられなかった。

以上の事実から、脂肪肝ラットの肝中においては、絶食時に、グリコーゲン分解が抑制されている事が、分った。

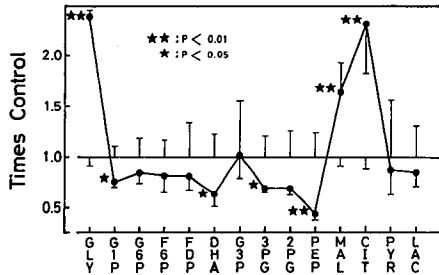
2. 肝中の糖代謝中間体の含量

肝中の糖代謝中間体は、酵素法等により、実験方法に従って、測定した。

図3および図4は、その結果であり、¹⁹⁾crossover theoremに従って、crossover plotと

図3 肝中における、12時間絶食後の糖代謝中間体のクロスオーバープロット

実験方法に記載したように、脂肪肝ラットと対照ラットを、12時間絶食した後、肝をin situで、freeze-clamped法により採取した。この肝を、過塩素酸処理により除タンパク後、 K_2CO_3 で中和し、酵素法等により、糖代謝中間体を測定した。縦軸は、対照ラット肝中の含量を1とした時の脂肪肝中の含量の比で示した。¹⁹⁾横軸には、糖代謝中間体を記載した。検定は、対照ラットに対して行った。値は5匹ラットの平均値±S.D.である。



して示した。図3より、12時間絶食の糖代謝パターンにおいて、脂肪肝のグリコーゲン分解が、グリコーゲンと、グルコース-1-リン酸の間で、抑制されている可能性が、考えられる。すなわち、グリコーゲンホスホリラーゼの酵素活性が抑制されている可能性が推測される。

さらに、リンゴ酸とホスホエノールピルビン酸の間にも抑制の可能性が考えられる。

表1に、細胞質の〔NAD⁺〕/〔NADH〕比を示した。

表1 ラット肝中における、細胞質およびミトコンドリア内の〔NAD⁺〕/〔NADH〕比

ラット (絶食時間)	細胞質 〔NAD ⁺ 〕/〔NADH〕	ミトコンドリア 〔NAD ⁺ 〕/〔NADH〕
対照ラット(0時間)	606 ± 155	7.6 ± 0.9
脂肪肝ラット(0時間)	974 ± 149 *	6.6 ± 1.0
対照ラット(12時間)	483 ± 174	6.8 ± 0.8
脂肪肝ラット(12時間)	491 ± 142	5.1 ± 0.5 *
対照ラット(24時間)	433 ± 154	5.0 ± 0.7
脂肪肝ラット(24時間)	501 ± 188	5.2 ± 0.6

検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±標準偏差(S.D.)である。

*; P < 0.05, 他はすべて、Not Significant (N.S.) であった。

これは、〔ピルビン酸〕/〔乳酸〕比の値から、Williamsonの文献に従って求めた。脂肪肝ラットの絶食時における、肝細胞質中の〔NAD⁺〕/〔NADH〕比を、対照ラットの値に比較してみたところ、いずれも、有意な差はえられなかった。この結果から、リンゴ酸からホスホエノールピルビン酸への糖新生経路において、オキサロ酢酸から、ホスホエノールピルビン酸の生ずる反応が抑制されている可能性、すなわち、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼの酵素活性が、抑制されている可能性が、考えられる。

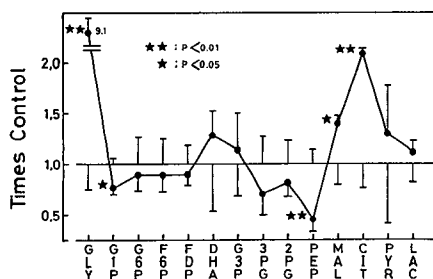


図4 肝中における、24時間絶食後の、糖代謝中間体のクロスオーバープロット

図3と同様に、脂肪肝ラットと対照ラットを、24時間絶食した後、肝をin situでfreeze-clamped法により採取した。同様の処理後、肝中の糖代謝中間体を測定した。値は5匹ラットの平均値±S.D.である。(図3の説明参照)

図4より、24時間絶食の糖代謝パターンも、図3に示した12時間絶食の場合と、同じ代謝の抑制が存在することが、推測される。但し、対照ラットの肝と、無脂肪高蔗糖食投与ラットの肝では、細胞の性質や構造が、若干、異なっている為、この結果だけから、結論を断定することはできない。

3. 肝中のケトン体含量

図5に、絶食後の肝中ケトン体含量を、3-ヒドロキシ酪酸含量とアセト酢酸含量の和として、示した。

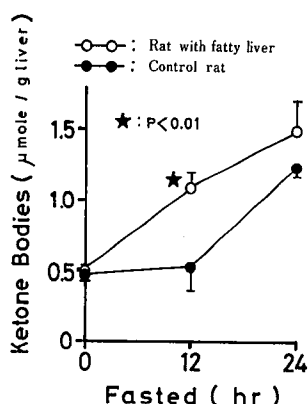


図5 肝中のケトン体含量 ($\mu\text{mole/g}$ 肝)

実験方法に従って、脂肪肝ラットと対照ラットを調製した後、12時間および24時間の絶食を行った。各時間に、*in situ* で、freeze-clamped法によって採取した肝を、図3の説明と同様に処理し、酵素法によって、3-ヒドロキシ酪酸と、アセト酢酸の肝中含量を測定した。検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値 \pm S.D.である。

脂肪肝ラットの肝中ケトン体含量は、対照ラットに比較して、絶食前には、有意な差がなかったが、絶食後、12時間では、有意に高い値を示した。24時間絶食では、対照ラット肝中のケトン体含量も多くなり、有意な差は、みられなくなった。これらの事実から、脂肪肝ラットでは、12時間絶食時に、肝において、ケトン体生成の亢進が生じていることが示唆された。これに対して、対照ラットの肝中ケトン体含量は、12時間絶食時には、絶食前とほぼ同じ値を示した。しかし24時間絶食時には、対照ラット肝も、脂肪肝ラット肝と、同程度のケトン体生成の亢進が示唆された。

我々の食生活において、12時間程度の絶食は、夕食から朝食にかけて、不断に経験して

いる。無脂肪高蔗糖食投与によって生ずる脂肪肝ラットにおいては、12時間以内の絶食中に、対照ラットに比較して、肝中のケトン体生成の亢進がみられた。だから、この現象は、脂肪肝の絶食時における代謝異常として、日常食生活の周期において、存在する事が推測される。

4. 血中のケトン体含量

絶食中の、各時間における血中の3-ヒドロキシ酪酸の含量を、図6に示した。

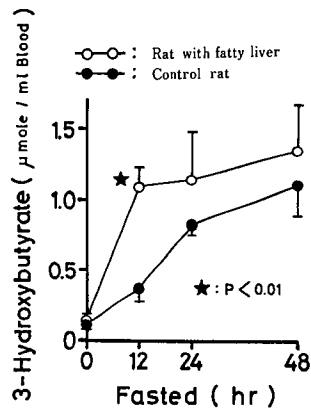


図6 血中の3-ヒドロキシ酪酸含量(μmole/ml 血液)

図5の説明と同様に調製した、脂肪肝ラットおよび対照ラットを、12時間、24時間および48時間絶食した後、断頭により、血液を採取した。血液は実験方法に従って処理し、酵素法により、3-ヒドロキシ酪酸の血中含量を測定した。検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。

脂肪肝ラットを12時間絶食すると、絶食前の値に比較して、肝中の結果と同様に、血中の3-ヒドロキシ酪酸の含量が、約7倍も高くなった。また、対照ラットに比較して、12時間絶食では、血中の3-ヒドロキシ酪酸が、有意に高い値を示した。しかし、24時間、48時間絶食においては、有意な差がみられなかった。図で示さなかったが、アセト酢酸の血中含量についても、同様の結果がえられた。

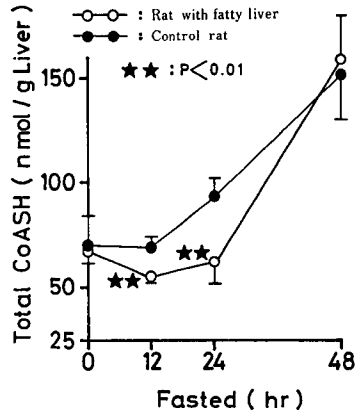
以上の結果から、肝中のケトン体含量のところでも述べたように、脂肪肝ラットの肝では、対照ラットの肝に比較して、12時間絶食時において、あるいは、それよりも早期に、ケトン体生成の亢進がおこっていると、考えられる。

5. 肝中の遊離コエンチームA (CoASH) および長鎖脂肪酸acyl-CoA含量

図7に、肝中の遊離コエンチームA (CoASH) 含量を示した。

図7 肝中の遊離コエンチームA 含量 (nmole/g 肝)

図5の説明と同様に行った。肝中の遊離コエンチームA含量は、酵素法によって、測定した。検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。



脂肪肝ラットを絶食すると、肝中のCoASH含量は、12時間および24時間において、対照ラットに比較して、有意に低い値を示した。

図8に肝中の長鎖脂肪酸acyl-CoA含量を示した。

図8 肝中の長鎖脂肪酸acyl-CoA含量(nmole/g 肝)

図5の説明と同様に行った。肝中の長鎖脂肪酸acyl-CoA含量は、実験方法に従って、測定した。検定は対照ラットに対して、行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。

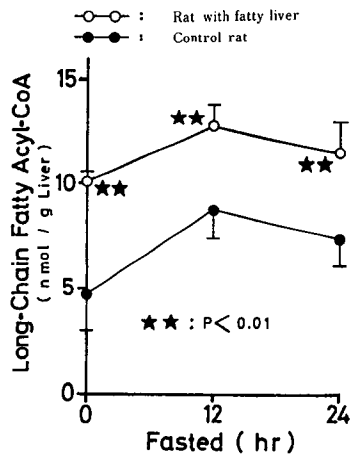


図8より、脂肪肝ラットの肝中の含量は、対照ラットに比較して、いずれも有意に高い値を示した。

表Iに、肝ミトコンドリア中の〔NAD⁺〕 / 〔NADH〕比を示した。この値は、3-ヒドロキシ酪酸とアセト酢酸の肝中含量の比から、Williamson²⁰⁾の文献に従って求めた。

脂肪肝ラット肝のミトコンドリア中〔NAD⁺〕 / 〔NADH〕比は、対照ラットの値に比較して、12時間絶食時において、有意に低い値を示した。

実験結果3および4のところで、脂肪肝ラットを絶食すると、対照ラットに比較して、12時間以内に、肝中のケトン体生成の亢進が、みられた。

ケトン体生成は、〔Acetyl-CoA〕² / 〔CoASH〕比の上昇によって、亢進されることが知られている。ゆえに、実験結果3および4より、12時間および24時間絶食時において、脂肪肝ラット肝中の〔Acetyl-CoA〕 / 〔CoASH〕比の上昇が、おこっていることが考えられる。図7、図8および表Iの結果と、あわせて考えるに、この〔Acetyl-CoA〕 / 〔CoASH〕

比の上昇は、脂肪肝ラットの12時間以内の絶食において、脂肪肝ミトコンドリア中の脂肪酸のβ-酸化が、亢進していることを示唆している。

以上の結果から、脂肪肝ラットを絶食すると、対照ラットに比較して、12時間以内に、肝中の脂肪酸acyl-CoAのβ-酸化と、ケトン体生成が、亢進することが考えられる。β-酸化の基質は、肝中の長鎖脂肪酸acyl-CoAと推測される。

6. 血中のNEFAおよびグルコース、血漿中の総コレステロールおよび中性脂肪含量

表IIに結果を示した。

脂肪肝ラットにおいて、絶食前の血漿中の中性脂肪含量が、対照ラットに比較して、有意に高い値を示した。

表II 血中NEFAおよびグルコース、血漿中総コレステロールおよび中性脂肪の含量

ラット (絶食時間)	NEFA (μEq/l血液)	グルコース (μmole/ml血液)	総コレステロール (mg/dl血漿)	中性脂肪 (μmole/ml血漿)
対照ラット(0時間)	172 ± 47	5.47 ± 0.40	64.6 ± 5.6	0.892 ± 0.053
脂肪肝ラット(0時間)	223 ± 92	5.23 ± 0.41	63.8 ± 5.9	1.07 ± 0.08**
対照ラット(12時間)	599 ± 90	4.94 ± 0.61	57.9 ± 9.3	0.710 ± 0.021
脂肪肝ラット(12時間)	723 ± 103	5.18 ± 0.23	68.0 ± 3.5	0.672 ± 0.062
対照ラット(24時間)	841 ± 62	4.86 ± 0.17	56.7 ± 10.1	0.773 ± 0.068
脂肪肝ラット(24時間)	815 ± 34	4.52 ± 0.76	58.3 ± 13.3	0.796 ± 0.080
対照ラット(48時間)	780 ± 104	4.29 ± 0.17	※	0.765 ± 0.041
脂肪肝ラット(48時間)	718 ± 63	4.19 ± 0.43	※	0.699 ± 0.053

検定は、対照ラットに対して行った。値は5匹ラットの平均値 ± S.D.である。

※; 測定しなかった。 ※※; P < 0.05, 他は、すべて、Not Significant(N.S.)であった。

意に高かった。しかし、脂肪肝ラットの12時間、24時間および48時間絶食時における、血中のNEFA含量および血糖値、血漿中の総コレステロール含量および中性脂肪含量は、対応する対照ラットに比較して、有意の差のある値は、いずれも、えられなかった。

7. 絶食時の体重変化

実験方法に従って、食餌をラットに与えたが、脂肪肝ラットの体重変化は、対応する対照ラットに比較して、有意な差がえられなかった。図9には、12時間、24時間および48時

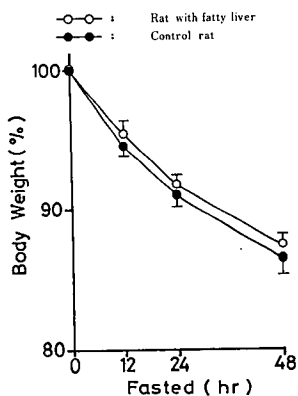


図9 絶食時の体重変化 (%)

実験方法に従って、調製した脂肪肝ラットおよび対照ラットを、12時間、24時間および48時間絶食させた。絶食前の体重を100%として、絶食による体重変化を測定した。検定は対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。

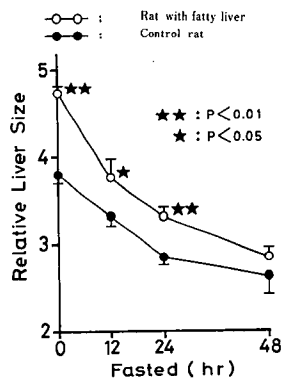
間絶食後の体重変化を示した。絶食直前の体重を100%として表わした。図9に示したように、脂肪肝ラットの絶食後の体重変化は、対照ラットに比較して、有意な差はえられなかった。

8. 絶食時のRelative Liver Size (RLS) の変化

図10に、絶食時のRLSを示した。

図10 絶食時のRelative Liver Size (RLS; ×10²)

実験方法に従って調製した脂肪肝ラットおよび対照ラットを、12時間、24時間および48時間絶食させた。各時間に、肝を取り出して、重量を測定し、RLS(×10²)を求めた。検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。



脂肪肝ラットの12時間および24時間絶食時におけるRLSは、対照ラットに比較して、有意に高かったが、48時間絶食では、有意な差はえられなかった。絶食時の体重は、実験結果7のところで述べたように、いずれも、有意な差はなかったから、この図10は、肝重量の絶食時における相対的变化を示している。図10より、脂肪肝ラットの肝は、対照ラットに比較して、12時間および24時間絶食により、急激に減少し、48時間絶食では、有意な差がみられなくなった。

9. 肝中の総脂質含量

図11に、絶食時における、肝中の総脂質含量を示した。実験方法¹⁷⁾に従って、肝中の総脂質含量を測定した。

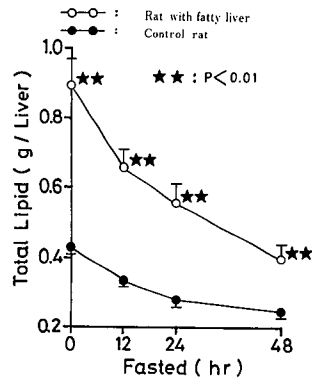


図11 肝中の総脂質含量 (g/肝)

実験方法に従って調製した脂肪肝ラット、および対照ラットを、12時間、24時間および48時間絶食させた。各時間に肝を採取し、Folchの方法¹⁷⁾に従って、肝中の総脂質含量を測定した。検定は、対照ラットに対して行った。値は、5匹ラットの平均値±S.D.である。

脂肪肝ラットの、肝中総脂質含量の絶食によって生ずる変化量は、12時間、24時間および48時間絶食において、対照ラットに比較して、各々、約2.7倍、約2.4倍、約2.9倍と大きかった。脂肪肝中に、沈着した脂肪は、中性脂肪である事が分っている。この中性脂肪は、普通、Very Low Density Lipoprotein (VLDL)として分泌されるが^{23, 24)}、実験結果6で述べたように、血中の中性脂肪含量は、12時間、24時間および48時間絶食において、対照ラットと比較して、有意な差は、みられなかった。血漿中の総コレステロール含量も、同様な結果がえられた。加えて、実験結果5で述べたように、脂肪肝ラットの絶食時における肝中の長鎖脂肪酸acyl-CoA含量は、対照ラットに比較して、有意に高い値を示した。

また、表Iに示したように、肝ミトコンドリア中の〔NAD⁺〕 / 〔NADH〕比も、対照ラットに比較して、有意に低下しており、脂肪酸のβ-酸化とケトン体生成が、亢進していると考えられた。さらに、実験結果6で述べたように、絶食時の血中NEFA含量は、対照ラットに比較して、有意の差がみられなかった。以上の結果から、脂肪肝ラットの肝において、絶食時に減少してゆく脂質の大部分は、肝中で、肝リパーゼ等により脂肪分解され、生じた脂肪酸は、長鎖脂肪酸acyl-CoA となることが推測される。この長鎖脂肪酸acyl-CoAは、肝ミトコンドリア中で、β-酸化され、Acetyl-CoAを生ずる。

このAcetyl-CoAは、肝中で、ケトン体となって血中に放出されることが考えられる。

血中のリン脂質、および肝中の脂質組成は、まだ検索していないので、脂肪肝中のリン脂質の分解等については、不明である。

さて、Randle²⁵⁾等の提唱している“glucose-fatty acid cycle”の概念に従えば、12時間以内の絶食で、ケトン体生成が亢進し、血中のケトン体含量が上昇すれば、筋肉等の血糖利用は、低下すると考えられる。血糖利用が低下すれば、グリコーゲン分解、および糖新生は、抑制されることが、合目的である。

しかし、正常肝では、絶食すると、まずグリコーゲン分解が行われ、次に、糖新生や脂肪組織の中性脂肪分解が行われる。結果として、血中NEFA含量の上昇が生じ、肝のβ-酸化およびケトン体生成が亢進してくる。無脂肪高蔗糖食投与によって生ずる脂肪肝ラットを絶食すると、前述したように、肝において、糖新生の抑制の可能性とグリコーゲン分解の抑制およびケトン体生成の亢進がみられた。この絶食時の代謝異常が、どのような原因によって、引き起こされるのかは、現段階では、まだ分っていない。

ラットに、無脂肪高蔗糖食を、2日間絶食、3日間再投与²⁶⁾、を3回くり返したところ、脂肪肝となり、ミトコンドリアも破壊され易くなっていた。この事実と、Alfin-Slater²⁷⁾等の研究から考えると、この無脂肪高蔗糖食投与ラットの脂肪肝には、必須脂肪酸欠乏状態が生じている可能性が考えられた。この必須脂肪酸欠乏も、この代謝異常に関係していることが推測される。

今後、この代謝異常を、ホルモンによる影響や酵素活性の測定等によって、さらに具体的に検索してゆくことにより、肝中でのグリコーゲン分解および糖新生と、肝中での脂肪分解、脂肪酸のβ-酸化およびケトン体生成が、代謝調節のうえで、どのように、相関しているかという点が、より明確になると思われる。

また、12時間以内の絶食において、脂肪肝中の、β-酸化およびケトン体生成の亢進が予測されたが、これが、病態的に、どのような障害と相関するのか、さらに検討してみたい。

IV 要 約

脂肪肝ラットの代謝パターンを調べる目的で、無脂肪高蔗糖食を、絶食と再投与をくり返して与え、脂肪肝ラットとした。その結果、絶食時において、脂肪肝のグリコーゲン分解が抑制されることが分った。さらに、絶食後の脂肪肝中のグルコース-1-リン酸含量が、対照ラット肝に比較して、有意に低いこと等から、グリコーゲンホスホリラーゼの酵素活性が、抑制されている可能性が推測された。さらに、脂肪肝の絶食状態におけるホスフォエノールピルビン酸含量が、対照ラットに比較して、有意に低いこと等から、糖新生が、ホスフォエノールピルビン酸カルボキシキナーゼのところで抑制されている可能性が推測された。

脂肪肝中のケトン体は、対照ラットに比較して、12時間絶食で、有意に高い値を示した。また、脂肪肝ラットを絶食したところ、血中のNEFAおよびグルコース含量、血漿中の総コレステロールおよび中性脂肪含量は、対照ラットに比較して、いずれも、有意な差がなかった。しかし、12時間絶食で、脂肪肝ラットの血中ケトン体含量は、対照ラットに比較して、有意に高い値を示した。以上のこと等から、脂肪肝ラットを絶食すると、12時間以内に、脂肪肝中の中性脂肪が、脂肪分解された後、さらに β -酸化され、その後にケトン体生成がなされるものと推測された。

また、脂肪肝ラットを絶食すると、12時間以内の絶食で、 β -酸化とケトン体生成の亢進が、脂肪肝中で生ずることが推測された。

以上のことから、脂肪肝ラットを絶食すると脂肪肝中のグリコーゲン分解と糖新生が抑制され、12時間以内に、ケトン体生成が亢進することが示唆された。

文 献

- | | |
|-----------------------------|------------------------------------|
| (1)吉利 和, 他 | 内科 13, 287 (1964) |
| (2)Isselbacher, K.J. et al. | New Engl. J. Med., 270, 351 (1964) |
| (3)Rouiller, C.H. | The Liver, II, 394 Academic Press, |
| (4)Medes, G. et al. | J. Biol. Chem., 197, 181 (1952) |
| (5)Almann, D.W. et al. | J. Lipid Res., 6, 63 (1965) |
| (6)Boxer, G.E. et al. | J. Biol. Chem., 155, 237 (1944) |
| (7)Muto, Y. et al. | B. B. R. C., 38, 9 (1970) |
| (8)Panos, T.C. et al. | J. Nutr., 49, 397 (1953) |
| (9)Panos, T.C. et al. | J. Nutr., 54, 315 (1954) |
| (10)安江 俊二, | 日本農芸化学会誌, (学会抄録) 51, (9) 93 (1977) |

- (11)安江俊二, 他 日本生化学会誌, **47**, 541 (1975)
(12)Miyazawa, S. et al. J. Biochem., **78**, 1171 (1975)
(13)Hassid, W. Z. et al. Method Enzymology, **13**, 385
(14)Bergmeyer, H. U. Methods of Enzymatic Analysis
volume 1 ~ 4. Academic Press,
Anal. Biochem., **49**, 373 (1972)
(15)McDaniel, H. G. et al. J. Lipid Res., **6**, 16 (1965)
(16)Itaya, K. et al. J. Biol. Chem., **226**, 497 (1957)
(17)Folch, J. et al. 医化学実験法講座, 3 B, 197
(18)馬場茂明, 他 Nature, **182**, 1190 (1958)
(19)Chance, B. et al. Biochem. J., **103**, 514 (1967)
(20)Williamson, D. H. et al. Z. Physiol. Chem., **353**, 1529 (1972)
(21)Huth, W. et al. Z. Physiol. chem., **354**, 635 (1973)
(22)Huth, W. et al. J. Lipid Res., **4**, 461 (1963)
(23)Nestel, P. J. et al. Metabolism, **10**, 1031 (1961)
(24)Havel, R. J. Ann. N. Y. Acad. Sci., **131**, 324 (1965)
(25)Randle, P. J. et al. Unpublished Data.
(26)Yasue, S. et al. Physiol. Rev., **48**, 758 (1968)
(27)Alfin-Slater, R. B. et al.