

ラット体組織のリポプロテインリパーゼ 分布について

鈴木正成 加重 剛 佐藤雄二

Lipoprotein Lipase Distribution in Rat Tissues

Masashige SUZUKI, Takeshi KAJUU and Yuji SATOH

Lipoprotein lipase (LPL) that is bound at the luminal surface of the capillary endothelium regulates the clearance of circulating lipoprotein-triglyceride fatty acids (TGFA). However, there are no sufficient knowledge on LPL distribution in rat tissues and assay methods of LPL activity. The present investigation was therefore undertaken to study the distribution of LPL activity in fasting rat tissues and effects of additions of heparin and serum, and the differences in the homogenizing buffer on the LPL activity determinations in the rat tissue.

Male 6-wk-old rats of Sprague-Dawley strain were bred for 20 days (rats having access to food for a single, daily, 15-hour meal from 19 to 09 hours). 20 days later, rats were fasted for 8.5 hours and then killed at 17:30 hours. LPL activities in adipose tissues and all other tissues that were directly homogenized in 10ml of 0.25M sucrose buffer (PH 8.1) and 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer (PH 8.1), respectively, were measured as described by Gasquet et al. Both Homogenizing buffers were contained with heparin at 0 or 1 iu/ml concentration. Furthermore, adipose tissue LPL activity was compared 0.25M sucrose buffer with 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer, contained heparin at the five concentrations (0 ~ 10 iu/ml).

- 1) LPL distribution in rat tissues; the highest level was observed in heart and soleus muscle, middle level in kidney and the lowest level in testis and spleen.
- 2) LPL activities in at adipose tissues (epididymal, perirenal, and subcutaneous) were at same levels.
- 3) Effect of heparin on the rat tissue LPL activity; LPL activity in adipose tissue was higher without heparin in the buffer, there was no effect of heparin on the liver LPL, and all other tissues showed higher LPL activity with heparin in the buffer.
- 4) There was no effect of different serums (fasting serum for 24 or 72 hrs, and heating serum) on the rat tissue LPL activity.
- 5) Adipose tissue LPL activity measured in 0.25M sucrose buffer was decreased as the heparin concentration increase, however, there found no effect of heparin in 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer. Furthermore, adipose tissue LPL activity that measured with 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer was higher than that with 0.25M sucrose buffer at all heparin concentrations.

These results suggest that kidney can efficiently uptake circulating lipoprotein-TGFA for the energy source, there seems no effect of different serums added to substrate medium on LPL activity, and

50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer may be better than 0.25M sucrose buffer in the measurement of the rat adipose tissue LPL activity to compare with those from other rat tissues. Further studies are needed to select an appropriate homogenizing buffer and to know the significance of heparin addition to the incubation medium.

毛細血管内壁に存在するリポプロテインリパーゼ (LPL) は、体組織による血中リポプロテイン、特にカイロミクロンと起低比重リポプロテイン (VLDL) のトリグリセリド (TG) の分解と取り込みに関与している²⁵⁾。現在までに脂肪組織、心臓および骨格筋の LPL 活性については、さまざまな栄養条件または運動条件を与えることで詳しく検討されてきた。しかし、他の組織 (肝臓、腎臓、脾臓、肺臓、睪丸など) の LPL 活性と生体の生理的条件に関しては十分な知見を得ているとはいえない。そこで本研究は、8.5時間の絶食負荷ラットの体組織間の LPL 活性を比較することを第一の目的とした。

次に本研究では体組織 LPL 活性測定法として、fresh-tissue homogenate を用いる方法について二、三の検討をおこなった。Fresh-tissue homogenate を用いる LPL 活性分析法は、現在必ずしも一定の条件が確立されているとはいえない。つまり、① homogenate 調製に用いる buffer の種類、② buffer へのヘパリン (heparin) 添加の有無、③ LPL の活性化に用いる血清の違い、などが LPL 活性に与える影響などについて、十分な理解が得られていない。特に Gasquet ら¹³⁾の方法が、脂肪組織に 0.25M sucrose buffer (pH 8.1)、他の組織には 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer (pH 8.1) を用いていることは、LPL 活性の組織間の比較を困難にする一つの原因となっている。

そこで本研究は、① fresh-tissue homogenate を用いた LPL 活性測定法における buffer への heparin 添加の有無と添加濃度の影響、② LPL の活性化に用いる血清の影響、③ 脂肪組織 LPL 活性測定に用いる buffer のちがい、などについて検討することを第二の目的とした。

実験方法

1. 実験動物および飼育法

生後 6 週令の JCL[®]: SD 系雄ラット 5 匹 (145 ~ 155 g, 日本クレア株式会社) を 1 ケージに 1 匹ずつ入れて飼育した。飼育室の照明は、07-19 時の 12 時間を人工照明し、19-07 時の 12 時間を暗期とする 12 時間の明暗サイクルとした。飼料は市販の固型飼料 (CE-7, 日本クレア株式会社) を用い、19-09 時の間に自由摂食出来るようにし、水は 24 時間自由に摂取出来るようにした。上記の条件で約 20 日間飼育し、生後 9 週令 (303 ~ 317 g) の時点で、8.5 時間の絶食後 17 時 30 分に断頭により屠殺した。また、老令ラットに 24 時間または 72 時間の絶食を負荷したのち屠殺し、採取した血液は 4 °C の温度下に 30 分間放置したのち、3,000 r.p.m. で 15 分間遠心して血清を得、LPL 活性測定に用いた。各組織は開腹後直ちに摘出し、LPL 活性測定まで -80 °C で凍結保存した。

2. 組織 LPL 活性の測定

実験 1

体組織間の LPL 活性を比較するために、凍結保存した組織切片 200 mg 前後をガラスホモジナイザーを用い、脂肪組織は 0.25M sucrose buffer (pH 8.1)、他の組織は 50mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer (pH 8.1) を各々 10 ml 用い、heparin 添加 (1 iu/ml) または無添加の条件で Gasquet ら¹³⁾の変法で fresh-tissue homogenate を調整した (Fig 1)。基質エマルジョンは 10% intralipid¹¹⁾ 1 容に対し 24 時間絶食させたラットの血清 2 容、0.4 M Tris-HCl buffer (pH 8.1, Bovine serum albumin 8.57% 含有) 7 容を加え、37 °C で振とうしながら 45 分間インキュベーションすることで活性化基質とした。Homogenate 調整後 2 時間以内に^{3, 21)} fresh-tissue homogenate 1 容に対し活性化基質 1 容¹³⁾を加え、37 °C で振とうしながらインキュベーションし、開始 5 分および 65 分後に容器を水中につけて反応を停止したのち、1 時間あた

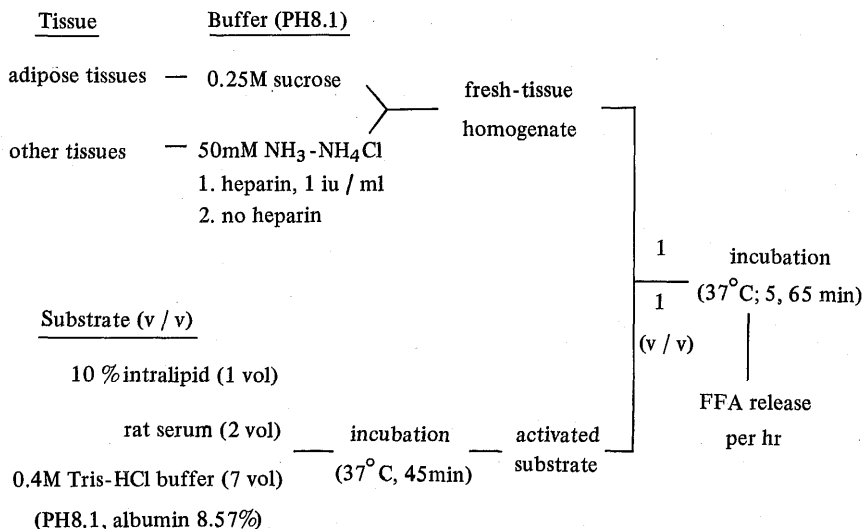


Fig. 1 Assay method of LPL activity.

りに産出されたFFA量を Troutらの改良法^{9 10 35 36)}により測定した。ただし、滴定液、指示薬は Kaplanの方法に従いイソプロパノールに溶解した。LPL活性を組織1g および全組織あたりに換算して表わした。

実験2

LPL活性に与える0.5 M NaCl とラット血清の影響を検討するために、肝臓、心臓、腎臓および脂肪組織は heparin (1 iu/ml) を含む 50 mM NH₃-NH₄Cl buffer を用い、基質に 0.5 M NaCl を添加したものおよびラット血清無添加のものを調整し、実験1と同様に LPL活性を測定し比較検討した。

実験3

ラット血清の性状のちがい、ならびに血清の中に微量存在する可能性のある LPL の組織 LPL 活性に与える影響をみるために、基質のラット血清に24時間もしくは72時間の絶食負荷後に採取したラット血清と、それらを62°Cで10分間加熱処理した血清¹⁾を用いて、50mM NH₃-NH₄Cl buffer (pH 8.1, heparin 1 iu/ml) で調整した心臓、ヒラメ筋および腓腹筋の LPL 活性を測定し比較検討した。

実験4

脂肪組織については、buffer のちがいならびに

heparin 添加濃度の影響をみるために、0.25 M sucrose buffer と 50mM NH₃-NH₄Cl buffer の2種類を用い、5段階の濃度の heparin (0, 0.01, 0.1, 1.0, 10 iu/ml) を添加した条件で、fresh-tissue homogenate を調整し、LPL 活性を測定し比較検討した。

実験結果

実験1 体組織間の LPL 活性比較と heparin 添加の影響

体組織の LPL 活性と heparin 添加の影響は、Table 1, 2 に示すとおりである。Buffer に heparin を添加した条件で、体組織の LPL 活性は組織 g あたりで表わした場合、心臓とヒラメ筋が最も高く、腎臓もかなり高い活性を示していたが、睪丸と脾臓の活性は低い値を示した。全組織あたりの活性でみると、肝臓が圧倒的に高く次いで腎臓と心臓の活性が高かった (Table 1)。脂肪組織の LPL 活性は、副睪丸、腎周囲および皮下などの部位のちがいによる差は認められなかった (Table 2)。

一方、heparin 添加により心臓、肺、睪丸、脾臓および骨格筋の LPL 活性は有意に増加し、腎臓の活性も増加傾向にあった。それに対して肝臓の LPL 活性には heparin の影響はみられず、逆

に脂肪組織のLPL活性は有意に低下していた (Table 1, 2)。

実験2 肝臓, 腎臓, 心臓, および脂肪組織のLPL活性に与える0.5 M NaCl とラット血清の影響

腎臓, 脂肪組織および心臓のLPL活性は, 0.5 M NaCl 添加により95%以上が阻害された。一方, 肝臓のLPL活性は0.5 M NaCl の添加や血

清無添加によりおよそ25%が阻害された (Table 3, 4, 5)。

実験3 ラット血清の性状のちがいが, ならびに血清中に微量存在する可能性のあるLPLの組織LPL活性に与える影響

心臓, 腓腹筋およびヒラメ筋のLPL活性は, 絶食時間の異なるラット血清 (絶食24時間, または72時間) の影響は認められなかった (Table 6)。

Table 1 Effect of heparin on LPL activity in fasting rat tissue.

Tissue	LPL activity			
	$\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$		$\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{whole} \cdot \text{tissue}$	
	Heparin			
	+	-	+	-
Heart (5)	40.3 ± 2.7	11.5 ± 2.0 ^a	43.4 ± 4.7	12.3 ± 2.5 ^a
Liver (5)	14.0 ± 0.6	14.3 ± 1.4	187.3 ± 11.4	191.0 ± 22.3
Lung (5)	11.6 ± 1.5	5.9 ± 0.5 ^b	18.1 ± 2.9	9.2 ± 1.0 ^d
Testis (4)	8.4 ± 0.3	5.4 ± 0.6 ^b	27.5 ± 3.7	18.1 ± 3.3
Spleen (5)	5.7 ± 0.7	2.6 ± 0.6 ^c	5.3 ± 0.7	2.5 ± 0.6 ^c
Kidney (5)	18.8 ± 1.3	14.7 ± 1.2	51.7 ± 4.2	40.1 ± 2.6 ^d
Gastrocnemius m. (5)	9.7 ± 1.3	2.3 ± 0.7 ^b	37.0 ± 5.7	9.1 ± 3.2 ^b
Soleus m. (5)	51.2 ± 6.9	30.4 ± 3.0 ^d	22.8 ± 2.4	13.8 ± 1.8 ^b

Values are means ± SE. The number of LPL determinations per group is given in parentheses. a, b, c and d mean $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.02$, and $p < 0.05$, respectively, when compared with the + values.

Table 2 Effect of heparin on the activity of LPL from fasting rat adipose tissues.

Adipose tissue	LPL activity			
	$\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$		$\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{whole} \cdot \text{tissue}$	
	Heparin			
	+	-	+	-
Epididymal	7.6 ± 2.8 (4)	22.8 ± 3.6 ^a (5)	17.3 ± 5.8 (5)	51.4 ± 8.8 ^b (5)
Perirenal	9.1 ± 1.1 (5)	18.1 ± 3.8 (5)	16.6 ± 2.9 (5)	34.7 ± 9.1 (5)
Subcutaneous	9.3 ± 1.8 (5)	19.6 ± 2.6 ^a (5)		

Values are means ± SE. The number of LPL determinations per group is given in parentheses. a and b: $p < 0.02$ and $p < 0.05$, respectively, when compared with the + values.

Table 3 Effect of 0.5M NaCl on the activity of LPL from fasting rat liver and kidney.

Tissue	LPL activity ($\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$)		
	-NaCl	0.5M NaCl	Inhibition (%)
Liver	15.9 ± 1.2	11.9 ± 1.2	25.3 ± 6.2
Kidney	19.8 ± 1.3	0.86 ± 0.3	95.4 ± 1.8

Values are means ± SE. The number of LPL determinations per group is 5 tissues.

Table 4 Effect of serum on the activity of LPL from fasting rat liver and kidney.

Tissue	LPL activity ($\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$)		
	+ Serum	- Serum	Inhibition (%)
Liver	17.2 ± 2.4	11.8 ± 0.8	27.9 ± 3.5
Kidney	22.3 ± 3.0	6.4 ± 1.0	72.0 ± 3.5

Values are means ± SE. The number of LPL determinations per group is 5 tissues.

Table 5 Effect of 0.5M NaCl on the activity of LPL from fasting rat adipose tissue and heart.

Tissue	LPL activity ($\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$)		
	-NaCl	0.5M NaCl	Inhibition (%)
Epididymal	86.1 \pm 3.6	3.2 \pm 0.7	96.2 \pm 1.0
Heart	68.2 \pm 3.5	0.9 \pm 0.8	98.5 \pm 1.5

Values are means \pm SE. The number of LPL determinations per group is 5 tissues.

Table 6 Effect of 24hr- and 72hr-fasting rat serum on the activity of LPL from fasting rat heart and gastrocnemius and soleus muscles.

Tissue	LPL activity ($\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$)	
	24hr-fasting serum	72hr-fasting serum
Heart	79.1 \pm 6.2 ^a	69.7 \pm 8.5 ^a
Gastrocnemius m.	4.0 \pm 0.7	3.2 \pm 0.8
Soleus m.	14.9 \pm 1.1 ^b	12.4 \pm 0.6 ^b

Values are means \pm SE. The number of LPL determinations per group is 5 tissues. a: $p < 0.001$, when compared with gastrocnemius m. and soleus m. in the same serum. b: $p < 0.01$, when compared with gastrocnemius m. in the same serum. No significant difference when compared 24hr with 72hr fasting serum in three tissues.

Table 7 Effect of heated serum on the activity of LPL from fasting rat heart.

	LPL activity ($\mu\text{eq FFA} / \text{hr} / \text{g} \cdot \text{tissue}$)	
	Normal	Heated
Heart	58.1 \pm 5.4	56.2 \pm 6.4

Values are means \pm SE. The number of LPL determinations per group is 5 tissues. No significant difference when compared with heated serum.

れなかった (Table 8)。

また、50mM $\text{NH}_3 - \text{NH}_4\text{Cl}$ buffer で測定した LPL 活性は各 heparin 濃度で、0.25 M sucrose buffer で測定した LPL 活性に比べて高かった。

考 察

本実験は、8.5時間の絶食ラットを用いておこなわれた。したがって、脂肪組織の LPL 活性は

また、加熱処理 (62°C, 10min) をおこなったラット血清が心臓の LPL 活性に与える影響は認められなかった (Table 7)。

実験 4 脂肪組織の LPL 活性に与える buffer のちがいならびに heparin 添加濃度の影響

0.25 M sucrose buffer で測定した LPL 活性は、heparin 濃度が増加するにつれてゆるやかな低下傾向を示した。一方、50mM $\text{NH}_3 - \text{NH}_4\text{Cl}$ buffer で測定した LPL 活性には heparin 濃度の影響は認めら

摂食時に比べて低いレベルにあると思われる^{34,36}。また、副睾丸、腎周囲および皮下の脂肪組織の LPL 活性は同レベルにあり、Hartman¹⁸⁾の報告と一致している (Table 2)。

心臓およびヒラメ筋の LPL 活性は絶食によって増加し、およそ絶食12時間後に最高レベルに達することが報告されている^{4,23)}。したがって、本実験の心臓およびヒラメ筋の LPL 活性は相対的に高いレベルにあるものと考えられる (Table 1)。

次にヒラメ筋の LPL 活性は、腓腹筋のおよそ5倍の活性を示した。ヒラメ筋はその96%が赤筋タイプの骨格筋であり、腓腹筋は赤筋および白筋の両タイプより構成されている混合タイプの筋である^{2,7,25)}。Scow ら²⁵⁾は白筋の LPL 活性は栄養状態に関係なく非常に低いレベルで一定であり、赤筋の LPL 活性は白筋に比べておよそ10倍高く、絶食により増加することを報告している。本実験のヒラメ筋と腓腹筋にみられる LPL 活性の差は、それぞれの筋の主に利用するエネルギー源の違い

Table 8 Effect of heparin in 50mM NH₃-NH₄Cl buffer and 0.25M sucrose buffer on the activity of LPL from fasting rat adipose tissue.

Buffer	LPL activity (μ eq FFA / hr / g · tissue)				
	Heparin (iu / ml)				
	0	0.01	0.1	1.0	10
0.25M sucrose	20.4 \pm 6.1	22.5 \pm 6.1	17.5 \pm 4.3	12.8 \pm 3.4	10.9 \pm 4.6
50mM NH ₃ -NH ₄ Cl	33.2 \pm 5.2	30.7 \pm 3.0	28.1 \pm 4.3	34.9 \pm 6.1	31.3 \pm 5.6

Values are means \pm SE of LPL determinations on 5 tissues.

(赤筋は脂肪酸, 白筋は糖質) や運動に対する特徴的な働きを裏付けるものである。ヒラメ筋と心臓のLPL活性を比較した以前の報告は^{5, 23)} 8~24時間の絶食後のLPL活性は心臓が2~4倍高いことを示している。それに対し本実験の心臓とヒラメ筋のLPL活性は同レベルにあった。この違いは実験条件その他のちがいによるものと思われるが理由は明らかではない。

肝臓のLPL活性は, buffer への heparin 添加の影響を受けなかった (Table 1)。このことは, 肝臓のLPL活性が他の組織のLPL活性と性質を異にする可能性を示唆するものである。LPL活性は0.5M NaCl または硫酸プロタミンおよび基質中への血清無添加により80-100%阻害される特性があるといわれている^{22, 25)}。今回の実験では0.5M NaCl または血清無添加により, 脂肪組織心臓および腎臓のLPL活性は95%以上阻害されたが, 肝臓のLPL活性阻害度は25%程度であった (Table 3, 4, 5)。この結果は, Korn²¹⁾ の報告と基本的に類似するものであり, Gjone¹⁶⁾ および Fredrickson²⁴⁾ によって報告されたように, 肝臓にはLPLとは性質を異にする肝性トリグリセリドリパーゼ (H-TGL) が存在することによる影響と考えられる。また, 肝臓の全組織あたりのLPL活性は他の組織に比べ圧倒的に高いが (Table 1), これは肝臓が脂質代謝, 特にリポプロテインの合成に加えて分解に関しても非常に重要な役割を演じていることを示唆する結果である。

次に腎臓のLPL活性が肝臓のレベルよりも高いことが示されたことは, 最も注目される結果の一つである (Table 1)。腎臓に関して従来の報告はほとんど見あたらないが, ごく最近 Gasquet

ら¹⁴⁾ は, 腎臓に本研究と同様に高いLPL活性が存在することを報告した。このことは, 腎臓の全活動エネルギー消費量の65%^{15, 19, 27)} もしくは20%^{29, 30, 31)} が血中FFAに依存しているという報告や, 腎臓の高い酸素消費量および高い毎分血流量 (組織gあたり) に関する報告³⁵⁾ などによって十分に裏付けられる結果である。また, 腎臓の一定した機能発現に対して, LPLを介した脂質代謝が重要な役割を果たしていることを示唆するものと考えられる。

Korn²¹⁾ は, 肺にLPL活性は存在しないことを報告したが, その後肺にもLPL活性が存在することが報告^{6, 14, 32)} され, 本研究においてもLPL活性の存在が確認された (Table 1)。さらに Hamosh¹⁷⁾ は, 肺のLPL活性は栄養状態の変化に影響されないで一定のレベルを維持することを報告している。

次に基質の活性化に用いるラット血清の性状のちがい, ならびに血清中に微量存在する可能性のあるLPL¹⁾ の組織LPL活性測定に与える影響を, 心臓, ヒラメ筋および腓腹筋を用いて検討した。その結果, 各組織とも血清の性状のちがい (絶食24時間, 72時間, および加熱処理血清) が, LPL活性に及ぼす影響は認められなかった (Table 6, 7)。このことは, 血清を採取したときの栄養状態や条件が違っていても基質を活性化する程度には, ほとんど差がないことを示している。したがって基質の活性化の程度を変化させる要因は, 血清によるものではなく実験操作上の問題によるものと考えられる。

本研究では fresh-tissue homogenate を用いる方法により, LPL活性を測定した。脂肪組織のLPL活性は0.25M sucrose buffer を用いたとき,

buffer に heparin を添加することで活性があきらかに低下した (Table 2)。このことは、heparin が LPL 活性に対して阻害的効果を発揮したことを示している。Lindahr ら²⁰⁾は、buffer のイオン強度の違いが heparin の効果を左右することを報告している。また Lithell ら²⁶⁾は、イオン強度が $I = 0.08$ のときに最大の活性が得られることを報告している。イオン強度は 0.25 M sucrose buffer においてはほぼ $I = 0$ であり、 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer では $I = 0.05$ であると考えられる。このイオン強度のちがいが、さまざまな濃度で heparin を添加したときに、LPL 活性が 0.25 M sucrose buffer に比べて 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer において明らかに高い傾向を示したことを説明する一つの要因であると考えられる。このことは、脂肪組織と他の組織の LPL 活性を比較するばあい、buffer の選択上に問題があることを示唆する結果である。

さらに、各組織の LPL 活性が heparin に対して同様な反応を示すかどうかは不明であること、実際に LPL が血中の TG-FA の取り込みに機能している毛細血管内皮細胞表面に heparin は存在していない²⁸⁾ということ、さらに LPL には細胞内に存在している生理的な条件で血中の TG-FA の取り込みに関与していない不活性な LPLb 型と、毛細血管内皮細胞表面に存在して血中の TG-FA の取り込みに機能している活性な LPLa 型の二種類が存在^{8, 12, 27)}して、heparin がどのような機構でこの二種類の LPL に機能しているのかが不明であることなどを考慮すると、heparin の buffer への添加の意義を含めて、fresh-tissue homogenate を用いた LPL 活性測定法について今後さらに検討していく必要があると考えられる。

要 約

毛細血管内壁に局在するリポプロテインリパーゼ (LPL) は、体組織による血中リポプロテイン-TG の取り込みに関与している。しかし、LPL 活性の体組織分布およびその分析法について十分な知見は得られていない。そこで本研究では、絶食ラットの体組織間の LPL 活性を比較すると

もに、fresh-tissue homogenate を用いる LPL 活性測定における buffer への heparin 添加の有無の影響、LPL の活性化に用いる血清の影響、および脂肪組織 LPL 活性測定における buffer と heparin 添加濃度の影響について検討した。

6 週令の SD 系ラットを約 20 日間 19-09 時の間自由食給餌する方式で飼育した後、8.5 時間の絶食負荷後 (17:30 時) に屠殺した。脂肪組織 LPL 活性は 0.25 M sucrose buffer (pH 8.1)、他の組織は 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer (pH 8.1) を用い heparin 添加、無添加の条件で Gasquet らの変法により測定した。さらに脂肪組織 LPL 活性は 5 段階の heparin 濃度 ($0\sim 10\text{ iu/ml}$) で、上記 2 種の buffer を用いて測定比較した。

1. 体組織の LPL 活性は心臓、ヒラメ筋が最も高く、腎臓もかなり高い活性を示したが、睪丸と脾臓の活性は低かった。

2. 脂肪組織 (副睪丸、腎周囲、および皮下) の LPL 活性には部位による差がなかった。

3. 体組織の LPL 活性に対する heparin 添加と無添加の条件の比較では、脂肪組織では無添加で高く、肝臓では差がなく他の組織では添加の条件で活性値が高かった。

4. LPL の活性化に用いる血清のちがい (24 または 72 時間絶食血清、および加熱処理血清) が LPL 活性に及ぼす影響はなかった。

5. 脂肪組織の LPL 活性は、 0.25 M sucrose buffer を用いて測定した場合、heparin 濃度が増すにつれてやや低下したが、 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer においては heparin 添加濃度の影響はなかった。さらに、 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer の方が 0.25 M sucrose buffer よりも各 heparin 濃度で高い LPL 活性値を与えた。

以上の結果から、① 腎臓に高い LPL 活性値が認められたことは、腎臓がエネルギー源として血中リポプロテイン-TG を効率よく取り込んでいる可能性を示唆している。② 血清の違いが LPL 活性に及ぼす影響はなかった。③ 脂肪組織の LPL 活性測定は、他の組織との相互比較のうえからも、 50 mM $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer を用いて他の組織と同様に測定することが望ましいのではないかと考えられる。しかし、buffer の選択や

heparin 添加の意義については、今後さらに検討を加える必要性があると考えられる。

参 考 文 献

- 1) Agbedana, E. O., A. O. Jonson, and G. O. Taylor, "Studies on hepatic and extrahepatic lipoprotein lipases in protein-calorie malnutrition," *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 292-298, 1979.
- 2) Barnard, R. J., V. R. Edgerton, T. Furukawa, and J. B. Peter, "Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers," *Am. J. Physiol.* 220(2): 410-414, 1971.
- 3) Bernfeld, P. and T. F. Kelley, "Inhibitory and activating effects of polyanions on lipoprotein lipase," *J. Biol. Chem.* 238(4): 1236-1241, 1963.
- 4) Borensztajn, J., S. Otway, and D. S. Robinson, "Effect of fasting on the clearing factor lipase (lipoprotein lipase) activity of fresh and defatted preparations of rat heart muscle," *J. Lipid. Res.* 11: 102-110, 1970.
- 5) Borensztajn, J., M. S. Rone, S. P. Babirak, J. A. McGarr, and L. B. Oscai, "Effect of exercise on lipoprotein lipase activity in rat heart and skeletal muscle," *Am. J. Physiol.* 229(2): 394-397, 1975.
- 6) Brady, M. and J. A. Higgins, "The properties of the lipoprotein lipase of rat heart, lung and adipose tissue," *Biochim. Biophys. Acta.* 137: 140-146, 1967.
- 7) Burke, R. E., "Motor unit and movement," *生体の科学.* 29(6): 424-434, 1978.
- 8) Davies, P., A. Cryer, and D. S. Robinson, "Hormonal control of adipose tissue clearing factor lipase activity," *FEBS LETTERS.* 45(1): 271-275, 1974.
- 9) Dole, V. P., "A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose," *J. Clin. Invest.* 35: 150-154, 1956.
- 10) Dole, V. P. and H. Meinertz, "Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues," *J. Biol. Chem.* 235(9): 2595-2599, 1960.
- 11) 福井 巖, 久城英人, "医化学実験法講座, 3B, 臨床化学II," p 254 - 263, 中山書店, 1973.
- 12) Garfinkel A. S., P. N. Ehle, and M. C. Schotz, "Regulation of lipoprotein lipase induction by insulin," *Biochim. Biophys. Acta.* 424: 264-273, 1976.
- 13) Gasquet, P. D., S. Griglio, P. Planche, and M. I. Malewiak, "Diurnal changes in plasma and liver lipids and lipoprotein lipase activity in heart and adipose tissue in rats fed a high and low fat diet," *J. Nutr.* 107:199-212, 1977.
- 14) Gasquet, P. D., E. Planche, A. Boulange, and N. T. Tonnu, "Importance of muscle lipoprotein lipase in rats during suckling," *Am. J. Physiol.* 238: E511-517, 1980.
- 15) Gold, M. and J. J. Spitzer, "Metabolism of free fatty acids by myocardium and kidney," *Am. J. Physiol.* 206(1): 153-158, 1964.
- 16) Greten, H., R. Degrella, G. Klose, W. Rascher, J. L. de Gennes, and E. Gjone, "Measurement of two plasma triglyceride lipase by an immunochemical method: studies in patients with hypertriglyceridemia," *J. Lipid. Res.* 17: 203-209, 1976.
- 17) Hamosh, M. and P. Hamosh, "Lipoprotein lipase in rat lung. The effect of fasting," *Biochim. Biophys. Acta.* 380: 132-140, 1975.
- 18) Hartman, A. D., "Lipoprotein lipase distribution in rat adipose tissues: effect on chylomicron uptake," *Am. J. Physiol.* 232(3): E316-323, 1977.
- 19) Hohenleitner, F. J. and J. J. Spitzer, "Changes in plasma free fatty acid concentrations on passage through the kidney," *Am. J. Physiol.* 200: 1095, 1961.
- 20) Iverius, P. H. and V. Lindahl, "Effect of heparin on lipoprotein lipase from bovine milk," *J. Biol. Chem.* 247(20): 6610-6616, 1972.
- 21) Korn, E. D., "Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. 1. Isolation and characterization of the enzyme from normal rat heart," *J. Biol. Chem.* 215: 1-14, 1955.
- 22) Korn, E. D., "Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. 2. Substrate specificity and activation of coconut oil," *J. Biol. Chem.* 215: 15-26, 1955.
- 23) Kotlar, T. J. and J. Borensztajn, "Oscillatory changes in muscle lipoprotein lipase activity of fed and starved rats," *Am. J. Physiol.* 233(4): E316-319, 1977.
- 24) Krauss, R. M., and R.I. Levy, "Selective measurement of two lipase activities in postheparin plasma from normal subjects and patients with hyperlipoproteinemia," *J. Clin. Invest.* 54: 1107-1124, 1974.
- 25) Linder, C., S. S. Chernick, T. R. Fleck, and R. O. Scow, "Lipoprotein lipase and uptake of chylomicron triglyceride by skeletal muscle of rats," *Am. J. Physiol.* 231(3): 860-864, 1974.
- 26) Lithell, H. and J. Boberg, "A method of deter-

- mining lipoprotein-lipase activity in human adipose tissue," *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 37: 551-561, 1977.
- 27) Nieth, H. and P. Schollmeyer, "Substrate-utilization of the human kidney," *Nature*. 209: 1244-1245, 1966.
- 28) Olivecrona, T., G. Bengtsson., S. E. Marklund., U. Lindalh, and M. Höök," Heparin-lipoprotein lipase interactions," *Fed. Proc.* 36(1): 60-65, 1977.
- 29) Park, H. C., E.L. Pinto, M. B. Macleod, and R. F. Pitts, "CO₂ production from plasma free fatty acids by the intact functioning kidney of the dog," *Am. J. Physiol.* 227(5): 1192-1198, 1974.
- 30) Pitts, R. F. and M. B. Macleod, "Metabolism of blood glucose by the functioning kidney of the dog," *Kidney International.* 7: 130-136, 1975.
- 31) Pitts, R. F., "Physiology of the kidney and body fluids," By Year Book Medical Publishers Inc., 1974.
- 32) Radomski, M. W. and T. Orme, "Response of lipoprotein lipase in various tissues to cold exposure," *Am. J. Physiol.* 220(6): 1852-1856, 1971.
- 33) 真島英信, "生理学", 文光堂, 1974.
- 34) Tan, M. H., T. Sata, and R. J. Havel, "The significance of lipoprotein lipase in rat skeletal muscle," *J. Lipid. Res.* 18: 363-370, 1977.
- 35) Trout, D. R., E. H. Estes, and S. J. Friedberg, "Titration of free fatty acids of plasma: a study of current methods and a new modification," *J. Lipid. Res.* 1(3): 199-202, 1960.
- 36) Wing, D. R., and D. S. Robinson, "Clearing-factor lipase in adipose tissue," *Biochem. J.* 106: 667-676, 1968.